



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **El complejo *Erythroxylum macrophyllum* (Erythroxylaceae): delimitación taxonómica y posición filogenética**

**Orlando Adolfo Jara Muñoz**

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias (Instituto de Ciencias Naturales)

Bogotá D. C. Colombia

2011



# **El complejo *Erythroxylum macrophyllum* (Erythroxylaceae): delimitación taxonómica y posición filogenética**

**Orlando Adolfo Jara Muñoz**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencias**

Director:

MSc. Orlando Rivera Díaz

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias (Instituto de Ciencias Naturales)

Bogotá D. C. Colombia

2011



*A mi familia*



## **Agradecimientos**

Expreso mi gratitud a los curadores de los herbarios: Nacional Colombiano (COL), New York Botanical Garden (NY), Missouri Botanical Garden (MO), Smithsonian Museum of Natural History (US), Field Museum de Chicago (F), Universidad de Antioquia (HUA), Universidad del Valle (CUVC), instituto de Investigaciones Amazónicas SINCHI (COAH), Universidad del Quindío (HUQ), Universidad Tecnológica del Chocó (CHOCO), Universidad Industrial de Santander (UIS), Universidad del Cauca (CAUP), Universidad Nacional, sede Medellín (MEDEL) y Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe (JAUM) por facilitar en préstamo de los especímenes y/o permitir el examen de los mismos en sus instalaciones. A mi director de tesis, profesor Orlando Rivera Díaz por su orientación y ayuda, a los profesores del Instituto de Ciencias Naturales, Diego Giraldo y Carlos Parra por sus pertinentes comentarios, al profesor Xavier Marquinez por su ayuda en los temas de anatomía, a Yeimy Contreras y Camilo Reyes del servicio de asesoría estadística del departamento de estadística de la Universidad Nacional por su ayuda, al laboratorio de Microscopía electrónica de Centro de Equipos Interfacultades de la Universidad Nacional por su excelente servicio, y a mi esposa Sandy por su apoyo en el desarrollo de la maestría.





## Resumen

El complejo *Erythroxylum macrophyllum* (Erythroxylaceae) es un grupo de difícil delimitación taxonómica dada su amplia distribución y variación morfológica. Con el fin de poner a prueba la validez de las especies incluidas actualmente en este complejo, se llevó a cabo un análisis de agregación de poblaciones (AAP) y para explorar la posición filogenética del complejo se realizó un análisis cladístico con base en caracteres morfológicos y anatómicos. Se pudieron discriminar cuatro especies del complejo: *E. macrophyllum*, *E. savannarum* stat. nov. (considerada previamente como una variedad de *E. macrophyllum*) y dos especies nuevas, una de Bolivia-Brasil, y otra de Colombia-Panamá, las cuales se describen e ilustran. El análisis cladístico aporta evidencia según la cual ni el complejo *E. macrophyllum*, ni la sección *Macrocalyx*, en la cual este ha sido incluido corresponden a grupos monofiléticos.

**Palabras clave:** anatomía vegetal, cladística, micro-morfología vegetal, morfología vegetal, taxonomía vegetal.

## Abstract

The *Erythroxylum macrophyllum* complex is a hard group for taxonomic delimitation, because of its broad distribution and morphological variation. In order to test the validity of the species currently included in the complex, a population aggregation analysis (PAA) was carried out; to explore the phylogenetic position of the complex a cladistic study was done, using morphological and anatomical characters. It was possible to delimit four species in the complex: *E. macrophyllum*, *E. savannarum* stat. nov. (previously treated as a variety of *E. macrophyllum*) and two new species, the first from Bolivia-Brazil and the second from Colombia-Panama, both are described and illustrated. The cladistic analysis adds evidence that neither the *E. macrophyllum* complex nor the section *Macrocalyx* are monophyletic groups.

**Keywords:** cladistics, plant anatomy, plant micro-morphology, plant morphology, plant taxonomy.



# Contenido

<b>Introducción.....</b>	<b>1</b>
<i>Recuento histórico .....</i>	<i>3</i>
<i>Concepto de especie y criterios diagnósticos.....</i>	<i>5</i>
<b>1. Delimitación de taxones y variación geográfica .....</b>	<b>7</b>
1.1. Materiales y métodos.....	8
1.1.2. Análisis de agregación de poblaciones .....	8
1.1.3. Análisis estadístico .....	10
1.2. Resultados .....	11
1.2.1. Análisis de agregación de poblaciones .....	11
1.2.2. Variación geográfica .....	12
1.3. Discusión .....	24
<b>2. Posición filogenética del complejo <i>E. macrophyllum</i>.....</b>	<b>27</b>
2.1. Materiales y métodos.....	27
2.1.1. Taxones analizados .....	27
2.1.2. Material estudiado.....	29
2.1.3. Caracteres y codificación .....	29
2.1.4. Análisis cladístico .....	29
2.2. Resultados .....	29
2.2.1. Análisis cladístico .....	30
2.3. Discusión .....	42
<b>3. Tratamiento taxonómico.....</b>	<b>45</b>
<b>4. Conclusiones y recomendaciones.....</b>	<b>65</b>
4.1. Conclusiones.....	65
4.2. Recomendaciones.....	65
<b>5. Anexo A. Material revisado.....</b>	<b>67</b>
<b>6. Anexo B. Perfiles de las poblaciones del análisis de agregación de poblaciones.....</b>	<b>91</b>
<b>7. Bibliografía .....</b>	<b>99</b>

## Lista de figuras

Figura 1-1. Gráfico con regiones de confianza de 95% para los dos primeros ejes derivados del análisis discriminante para las especies nominales <i>Erythroxylum macrophyllum</i> .....	13
Figura 1-2. Gráfico con regiones de confianza del 95% para los primeros dos ejes derivados del segundo análisis discriminante (AD) para los grupos discriminados en el primer AD, con (A) grupos incluyendo a <i>E. macrophyllum</i> en <i>E. lucidum</i> (LUCID). (B) incluyendo a <i>E. macrophyllum</i> (MACRO) como grupo separado.....	14
Figura 1-3. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> entre Nicaragua y México .....	16
Figura 1-4. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> en Panamá y Costa Rica. 17	
Figura 1-5. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> en Colombia y Venezuela (Excepto Amazonia de Colombia).....	18
Figura 1-6. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> de Ecuador y piedemonte de Perú. ....	19
Figura 1-7. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> de Bolivia y occidente de Brasil.....	20
Figura 1-8. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> de la alta Amazonia, incluyendo registros de Brasil, Colombia y Perú.....	20
Figura 1-9. Poblaciones del complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> en Guyana, Guyana Francesa, Surinam y bajo Amazonas.....	21
Figura 1-10. Gradilla con celdas de 1° x 1° representando: A) Riqueza de poblaciones del complejo <i>E. macrophyllum</i> por celda, B) Número de especímenes del complejo <i>E. macrophyllum</i> registrados en cada celda.....	22
Figura 1-11. Variación de la forma del cáliz en <i>E. macrophyllum</i> . ....	23
Figura 2-1. Envés foliar de <i>Erythroxylum gracilipes</i> mostrando las líneas de vernación. ....	31
Figura 2-2. Corte transversal de estípulas de <i>Erythroxylum macrophyllum</i> mostrando las fibras les dan la textura estriada .....	32
Figura 2-3. Estigmas en las especies estudiadas de <i>Erythroxylum</i> vistas en SEM. A) estigma capitado en <i>Erythroxylum macrophyllum</i> . B) estigma clavado en <i>Erythroxylum ulei</i> , C) <i>Erythroxylum carthagese</i> , D) pubescencia en <i>Erythroxylum suberosum</i> .....	33
Figura 2-4. (A) Papilas en <i>Erythroxylum panamense</i> vistas en SEM. (B) Papilas en <i>Erythroxylum fimbriatum</i> vistas en microscopio óptico (40X). ....	34
Figura 2-5. Tipos de acumulaciones de cera observadas en el envés foliar vistos en SEM. A) plaquetas membranáceas en <i>Erythroxylum campestre</i> . B) plaquetas membranáceas en <i>Erythroxylum suberosum</i> . C) capas fisuradas en <i>Erythroxylum cuneifolium</i> . D) gránulos en <i>Erythroxylum daphnites</i> . E) gránulos en <i>Erythroxylum macrophyllum</i> . F) capas fisuradas en <i>Erythroxylum laetevirens</i> . G) tubulos en <i>Erythroxylum kapplerianum</i> . H) capa lisa en <i>Erythroxylum ruizii</i> . I) rosetas en <i>Erythroxylum carthagenense</i> . ....	35
Figura 2-6. Sección transversal de la vena media (A) <i>Erythroxylum ruizii</i> mostrando tejido vascular en dos capas separadas, adaxial plana y sin ejes colaterales. (B) <i>Erythroxylum squamatum</i> mostrando tejido vascular en forma de arco abierto con dos ejes colaterales. (C)	

<i>Erythroxylum citrifolium</i> mostrando tejido vascular en arco cerrado sin ejes colaterales. (D)	
<i>Erythroxylum barbatum</i> mostrando la ausencia de fibras perivasculares. (E) <i>Erythroxylum fimbriatum</i> mostrando ejes colaterales y vena media adaxialmente apiculada (F)	
<i>Erythroxylum Macrocalyx</i> mostrando ejes colaterales. ....	36
Figura 2-7. Sección transversal del mesófilo de: A) <i>Erythroxylum savannarum</i> mostrando esclereidas dispersas en mesófilo laxo, B) <i>Erythroxylum citrifolium</i> , mostrando esclereidas en mesófilo compacto. C) <i>Erythroxylum ruizii</i> , mostrando mesófilo sin esclereidas. ....	37
Figura 2-8. Consenso estricto del análisis cladístico para el complejo <i>Erythroxylum macrophyllum</i> mostrando soporte de Jackknife para cada rama e indicando los principales clados (A-D), en azul las especies del complejo <i>E. macrophyllum</i> , y en rosado las demás especies de la sección <i>macrocalyx</i> . ....	37
Figura 2-9. Clados A + B + C + D + <i>E. kapplerianum</i> resaltados en amarillo. ....	38
Figura 2-10. Clados B+C+D+ <i>E. kapplerianum</i> resaltados en amarillo. ....	39
Figura 2-11. Clados C+D+ <i>E. kapplerianum</i> resaltados en amarillo. ....	40
Figura 2-12. Clado C resaltado en amarillo. ....	41
Figura 2-13. Clado D resaltado en amarillo. ....	42
Figura 3-1. <i>Erythroxylum sp. nov. 1</i> . A) rama con flores, B) estípula, C) flor sin pétalos, D) pétalo en vista adaxial (basado en Carbone 380, ilustración por A. Jara). ....	55
Figura 3-2. <i>Erythroxylum sp. nov. 2</i> . A) rama con frutos, B) pétalo en vista adaxial, C) pétalo en vista lateral, D) corona estaminal, E) ovario (ilustración basada en Jordán 162, por A. Jara)	58
Figura 3-3. Registros y distribución probable de <i>E. savannarum</i> , <i>E. sp. nov. 1</i> y <i>E. sp. nov. 2</i> .	59

## Lista de tablas

Tabla 1. Composición, sinonimia y distribución de los taxones de la sección <i>Macrocalyx</i> según Schulz, 1907 (*sinonimias aceptadas actualmente. † taxones que se encuentran actualmente en la sinonimia de <i>E. macrophyllum</i> . ‡Nombre invalido).....	1
Tabla 2. Especies y variedades incluidas actualmente en el complejo <i>E. macrophyllum</i> y la región de donde fueron originalmente descritas (*taxones aceptados en Plowman & Hensold (2004))......	2
Tabla 3. Atributos registrados para cada espécimen estudiados del complejo <i>Erythroxyllum macrophyllum</i> . ....	9
Tabla 4. Matriz clasificatoria del análisis discriminante (AD) para las especies nominales de <i>Erythroxyllum macrophyllum</i> , mostrando los individuos correctamente ubicados. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) para la correcta ubicación es de $P \leq 0.05$ . El número de los grupos en la fila superior corresponden a los de la primera columna.....	13
Tabla 5. Matriz clasificatoria del AD para los cinco grupos reconfigurados, mostrando los individuos correctamente asignados. El nivel de significancia ( $\alpha$ ) del correcta asignación es $P \leq 0.05$ . Los números en la fila superior corresponden a los grupos de la primera columna..	15
Tabla 6. Tabla comparativa de los géneros de Erythroxyllaceae .....	27
Tabla 7. Secciones y especies con su distribución, representadas en el grupo externo del análisis cladístico .....	28
Tabla 8. Matriz de datos de 17 caracteres morfológicos para las especies del complejo <i>E. macrophyllum</i> y el grupo externo. Estados no conocidos marcados con "?". .....	30

## Introducción

La familia Erythroxylaceae alberga aproximadamente 240 especies de árboles y arbustos tropicales a subtropicales, teniendo como principales centros de diversidad y endemismo a Brasil y Madagascar (Daly, 2004). La mayoría de las especies de la familia pertenecen al género *Erythroxylum* P. Browne, el cual se distribuye en los cuatro continentes, aunque está principalmente diversificado en el Neotrópico, con cerca de 187 especies nativas de esta región (Plowman & Hensold 2004). Es un grupo de gran versatilidad ecológica, con especies en ambientes de selva húmeda y en regiones semiáridas, y desde el nivel del mar hasta zonas montañosas (Daly, 2004).

La sección *Macrocalyx* es una de las 19 secciones en la cuales Schulz (1907) clasificó el género *Erythroxylum* en su revisión de toda la familia, y una de las 9 exclusivamente neotropicales. Según Schulz esta sección se puede reconocer por presentar estípulas estriadas, condición que comparte con la amplia sección *Rhabdophyllum* y con la sección monoespecífica *Pogonophorum* (*Erythroxylum barbatum*), y la última por sus estípulas no densamente fimbriadas y cáliz ovado o triangular contra oblongo, y se diferencia de la primera por su cáliz con lobos ampliamente ovados y con prefoliación contorta. Originalmente se incluyeron en la sección ocho especies y dos variedades.

Tabla 1. Composición, sinonimia y distribución de los taxones de la sección *Macrocalyx* según Schulz, 1907 (\*sinonimias aceptadas actualmente. † taxones que se encuentran actualmente en la sinonimia de *E. macrophyllum*. ‡Nombre inválido).

Especie	Sinonimia	Distribución (según Schulz, 1907)
<i>E. Macrocalyx</i> Mart.	<i>E. kunthianum</i> var. $\beta$ St.-Hill.*	Brasil (Bahia, Minas Gerais)
<i>E. hamigerum</i> O. E. Schulz	<i>E. Macrocalyx</i> Peyr.*	Brasil (Bahia)
<i>E. pauciflorum</i> Rusby	<i>E. parviflorum</i> Rusby ‡	Bolivia
<i>E. macrocnemium</i> Mart. †	<i>E. cuneifolium</i> Poepp. ex O.E.Schulz ‡ <i>E. macrophyllum</i> Poepp. ex O.E.Schulz ‡ <i>E. spectabile</i> Bong. ex O.E.Schulz ‡	Perú (Maynas)
<i>E. lucidum</i> var. <i>lucidum</i> Kunth †	<i>E. floribundum</i> Seem. ‡ <i>E. ellipticum</i> Ramirez †	Centroamérica, Andes de Colombia y Perú (Loreto, Tarapoto)
<i>E. lucidum</i> var. <i>costaricensis</i> †	-	Costa Rica y México
<i>E. macrophyllum</i> Cav.	-	Guyanas, Venezuela, Amazonia Brasilera y Perú.
<i>E. floribundum</i> Mart. †	<i>E. durum</i> S.Moore <i>E. laurinum</i> Planch. & Linden ex Triana & Planch. <i>E.</i> <i>rubrinerve</i> Bong. Ex O.E.Schulz	Amazonia brasilera y Colombia
<i>E. suberosum</i> var. <i>suberosum</i>	<i>E. areolatum</i> Vell. <i>Steudelia brasiliensis</i> Spreng.	Ampliamente distribuido en Brasil, tambien en Paraguay, Bolivia y Guyana Francesa.
<i>E. suberosum</i> var. <i>denudatum</i>	-	Brasil

El complejo polimorfo de especies *Erythroxylum macrophyllum* fue propuesto originalmente por Plowman (1988), este se distribuye desde el sur de México (Veracruz) a través de Centroamérica y en la mayor parte de Suramérica tropical. Suelen ocurrir formas muy distintas en hábitats diferentes pero adyacentes, frecuentemente con diferente suelo, humedad o altitud (Plowman, 1988). En los tratamientos taxonómicos que incluyeron al complejo, Plowman optó por incluir diferentes formas en la sinonimia de *E. macrophyllum*,

reconociendo solo variantes mayores como variedades, aunque advirtiendo sobre la necesidad de realizar un estudio intensivo en el grupo. En trabajos posteriores se han reconocido nuevamente a *Erythroxylum amplum* (Loiola 2001, 2010) y *Erythroxylum skutchii* (Plowman & Hensold 2004), (Tabla 2).

Tabla 2. Especies y variedades incluidas actualmente en el complejo *E. macrophyllum* y la región de donde fueron originalmente descritas (\*taxones aceptados en Plowman & Hensold (2004)).

Nombre	Distribución
<i>E. amplum</i> Benth.*	Perú-Brasil (Amazonia)
<i>E. costaricense</i> Donn. Sm. ( <i>E. lucidum</i> var. <i>costaricense</i> )	Costa Rica
<i>E. ellipticum</i> Ramirez	México
<i>E. filipes</i> Huber	Brasil (Amazonia)
<i>E. floribundum</i> Mart.	Brasil (Amazonia)
<i>E. laurinum</i> Planch. & Linden ex Triana & Planch.	Colombia (Orinoquia)
<i>E. lucidum</i> Kunth	Colombia (Andes)
<i>E. macrophyllum</i> Cav.*	Guyana
<i>E. macrophyllum</i> var. <i>ecuadorensis</i> Plowman*	Ecuador (Amazonia)
<i>E. macrophyllum</i> var. <i>macrocnemium</i> (Mart.) Plowman*	Perú-Brasil (Amazonia)
<i>E. macrophyllum</i> var. <i>savannarum</i> Plowman*	Colombia-Venezuela (Orinoquia)
<i>E. multiflorum</i> Lundell	Panamá
<i>E. skutchii</i> Standl.*	Costa Rica
<i>E. tabascense</i> Britton	México

Los taxones del complejo *E. macrophyllum* fueron incluidos por Schulz (1907) en la sección *Macrocalyx*, con excepción de las que no habían sido descritos hasta entonces; *E. skutchii*, *E. ellipticum*, *E. filipes*, *E. macrophyllum* var. *ecuadorensis* y *E. macrophyllum* var. *savannarum*, por su parte, *E. amplum* es incluido en la sección *Rhabdophyllum*, *E. costaricense* es tratado como una variedad de *E. lucidum* y *E. macrophyllum* var. *macrocnemium* es tratado como una especie. Sin embargo, la monofilia de esta sección no ha sido probada, y algunos estudios sugieren que la mayoría de las 19 secciones propuestas por Schulz (1907) no son monofiléticas (M. Islam *com. Pers.*; (Loiola, 2001)). Las especies de la sección tienen estípulas estriadas como las secciones *Rhabdophyllum* y *Pogonophorum*, pero se diferencia de la primera por su cáliz ampliamente ovado con prefloración contorta (Vs. triangular con prefloración valvar) y de la segunda por no tener el margen y ápice de las estípulas densamente fimbriados (Loiola, 2001; Schulz, 1907). Es indispensable someter a prueba la homología de estos caracteres, si se quieren evaluar las relaciones filogenéticas entre las especies del complejo.



El uso de criterios diagnósticos *a priori* para probar los límites entre especies, como hipótesis que puedan ser empíricamente aceptadas o rechazadas (J. W. Sites & Crandall, 1997; Wiens & Servedio, 2000) nunca ha sido aplicado en estudios previos para el complejo *E. macrophyllum*, y las revisiones taxonómicas que han incluido el complejo dan pocas luces sobre los límites entre especies. Ante tal dificultad, se ha recurrido usualmente a incluir numerosos taxones en la sinonimia de *E. macrophyllum* sin justificación explícita. Sin embargo, la abundante cantidad de especímenes disponibles actualmente en los herbarios hacen posible la descripción de la variación morfológica para todos los potenciales taxones, lo que permite evaluar el estatus del complejo *E. macrophyllum* así como su posición filogenética.

El objetivo general del estudio es poner a prueba la validez de las especies incluidas actualmente en el complejo *E. macrophyllum*, con base en caracteres morfológicos, y explorar la posición filogenética de sus especies para proponer una nueva taxonomía que represente mejor las relaciones evolutivas entre los taxones. Para tal fin, se llevará a cabo un estudio de la variación morfológica del complejo mediante el método de análisis de agregación de poblaciones (AAP) (Davis & Nixon, 1992), con base en los resultados de este análisis se estudiará la variación geográfica del complejo mediante un estudio morfométrico, aplicando un análisis discriminante. Para el esclarecimiento de la posición filogenética del complejo, se llevará a cabo un análisis cladístico basado en caracteres morfológicos, micromorfológicos y anatómicos.

## ***Recuento histórico***

El primer nombre dado a una especie del complejo fue *Erythroxylum macrophyllum*, descrita por Cavanilles en 1789 con base en colecciones realizadas por D. Stoupy en la Guyana Francesa.

En 1822 fue descrita *Erythroxylum lucidum* Kunth a partir de colecciones de Humboldt en los bosque secos del valle del río Magdalena, entre los municipios de La Mesa y Honda en Cundinamarca, Colombia (Von Humboldt, Bonpland, & Kunth, 1822).

En 1840 fue publicada *Erythroxylum floribundum* Mart., con base en colecciones de Martius en Belén, Pará, Brasil, el autor considera esta especie afín a *Erythroxylum campestre* A. St.-Hil., *Erythroxylum mamacoca* Mart., *Erythroxylum citrifolium* A. St.-Hil. y *Erythroxylum squamatum* Sw., pero afirma que se separa de estas por su inflorescencia muy aglomerada, cáliz folioso y forma de la hoja.

En 1843 fue descrito *Erythroxylum amplum* Benth., a partir de colecciones de Schomburgk en la el alto Río Negro, Amazonas, Brasil.

En 1862 se publica *Erythroxylum laurinum* Planch. & Triana, a partir de material recolectado por J. J. Triana en Villavicencio, Meta, Colombia, en la diagnosis dicen los autores que esta especie se asemeja por las hojas a *E. macrophyllum* y a *E. amplum*, pero que se diferencia de estas por las flores casi sésiles formando grupos compactos axilares a las hojas (Trana & Planchon, 1862).

En 1897 John Donell Smith describió *Erythroxylum costaricense* con base en material proveniente de Santo Domingo, Golfo Dulce, Costa Rica por Tonduz (Smith, 1897) sin dejar

explícitos los caracteres diagnósticos de esta especie, solo dice que la especie puede ser agrupada con *E. amplum* y con *E. laurinum*.

En este mismo año, se publica *Erythroxylum ellipticum* Ramírez, con base en material recolectado en el estado de Veracruz, México (Ramírez, 1897) pero debido a que existían homónimos previamente publicados (*Erythroxylum ellipticum* Benth. (1863) y *Erythroxylum ellipticum* Peyr. (1878) y *Erythroxylum ellipticum* R.Br. ex Benth. (1863)), este nombre quedado invalidado. El autor dice haber comparado a esta especie con *E. macrophyllum* y *Erythroxylum mexicanum*, por ser las especies que se reportaban para este país en esta época, y dice que también la comparó con especies de Centroamérica y Suramérica, sin especificar cuáles, agrega además un comentario sobre el origen foliar de los apéndices que se presentan en la cara abaxial de los catafilos.

*Erythroxylum* fue subdividido por Schulz (1907) en 19 secciones, entre estas Schulz propuso la sección *Macrocalyx*, en donde incluye a *E. macrophyllum*, junto a: *E. hamigerum*, *E. pauciflorum*, *E. lucidum*, *E. multiflorum*, *E. macrocnemium* y *E. suberosum*, Schulz incluye a *E. amplum* en la sección *Rhabdophyllum* por tener el cáliz triangular.

También en 1907 fue descrita *Erythroxylum tabascense* Britton con base en material proveniente del estado de Tabasco, México; dentro de la sinonimia el autor incluye: "*E. ellipticum* Ramirez... not *E. ellipticum* R. Br." (Britton, 1907), de manera que Britton se percata de la invalidez de *E. ellipticum* Ramírez, y propone la nueva especie, consciente de la posibilidad de que esta correspondiera a la misma entidad y no realiza diagnosis comparativa con ninguna especie.

En 1909 fue publicada *Erythroxylum filipes* Huber., a partir de especímenes provenientes de Pará, Brasil (Huber, 1909), el autor considera afín esta especie con *E. amplum* pero dice diferenciarla por los pedicelos largos y delgados, "*pedicellis 8-9 mm longis gracilibus filiformibus apice paulo incrassatis*".

Colecciones realizadas por Alexander F. Skutch en la provincia de San José, Costa Rica, con hojas particularmente grandes fueron descritas en 1940 como *Erythroxylum skutchii* Standl. (Standley & Steyermark, 1940), el autor dice diferenciar esta especie de los *Erythroxylum macrophyllum* de hojas grandes de Centroamérica por las gruesas y prominentes venas secundarias por el envés.

El más reciente recuento de la sinonimia de *Erythroxylum macrophyllum* es provisto en (Plowman & Hensold 2004), allí se incluyen las especies que Plowman propuso en Flora de Costa Rica (Plowman, 1991), en Flora de Ecuador (Plowman, 1989) y en Flora de la Guyana Venezolana (Plowman & Berry, 1989), no obstante en esta publicación como en Loiola (2001), se reconoce a *Erythroxylum amplum* y a *E. skutchii*, incluyendo en su sinonimia a *E. multiflorum*.

## ***Concepto de especie y criterios diagnósticos***

Posiblemente se ha escrito más sobre conceptos de especies que sobre cualquier otro aspecto en biología evolutiva (Mayden, 1997), pero entre la gran cantidad de aproximaciones se reconocen dos tipos fundamentales de conceptos; aquellos que intentan establecer lo que es una especie como tal, o primarios, y los que señalan criterios de reconocimiento de las especies, llamados también secundarios (Frost & Kluge, 1994) o líneas de evidencia (de Queiroz, 2007). Levin (2000) clasificó los conceptos de especie en: mecanísticos, históricos y fenéticos, los mecanísticos son netamente primarios, los históricos son algunos primarios y otros secundarios, y los fenéticos son netamente secundarios. En el presente estudio se sigue el concepto general de linajes (De Queiroz, 1998) y como línea de evidencia se sigue el concepto filogenético de especie de Nixon & Wheeler (1990); “la más pequeña agregación de poblaciones... diagnosticables por una combinación única de estados de carácter, en individuos comparables (semaforontes)” llamada también “aproximación diagnóstica” para diferenciarla de otros conceptos filogenéticos de especie, (Baum & Donoghue, 2011; de Queiroz, 2007)

A pesar de la considerable atención que se ha puesto sobre el concepto de especie, los aspectos metodológicos para probar límites entre estas han recibido poca atención (Benavides, Ortiz, & J. W. J. Sites, 2002; Wiens & Servedio, 2011). Desde una perspectiva operacional, algunos autores han enfatizado en la claridad que puede aportar un criterio *a priori* por el cual estos límites puedan ser puestos a prueba como hipótesis, para ser empíricamente aceptadas o rechazadas (Benavides et al., 2002, J. W. Sites & Crandall, 1997).

El análisis de agregación de poblaciones (AAP) propuesto por Davis & Nixon (1992) para aplicar el concepto filogenético ampliado de especie de Nixon & Wheeler (1990), es uno de los pocos métodos empíricos de delimitación de especies aplicable a caracteres morfológicos (J. W. Sites & Marshall, 2004).

Una modificación al AAP fue propuesta por Wiens & Servedio (2000), ha sido seguida por algunos autores, en vez de la propuesta metodológica original (p. ej. Passos & Fernandes 2008). En esta aproximación se argumenta que debido a que estadísticamente resulta muy difícil detectar polimorfismos con cantidades limitadas de muestras, es más realista admitir cierta proporción de polimorfismo, proponiendo que grandes diferencias en la frecuencia de determinados rasgos entre dos especies putativas, puede ser buena evidencia de que hay poco o ningún flujo genético entre estas. En el presente trabajo se sigue la propuesta original, pues se considera que el argumento de Wiens & Servedio (2000), no tiene justificación a la luz del concepto filogenético de especie y porque los argumentos estadísticos tampoco son satisfactorios, pues si en las muestras estudiadas se detecta una pequeña proporción de polimorfismo y teniendo en cuenta que las muestras depositadas en los herbarios representan solo una pequeña parte de los individuos de la especie que ocurren realmente, resulta lógico creer que es muy poco probable que este polimorfismo sea tan poco común en la realidad. Si se detecta polimorfismo en las muestras, es altamente probable que este sea frecuente también en la naturaleza, más aun cuando se presenta en individuos provenientes de diferentes poblaciones locales, por esto se considera preferible usar la fijación del 100% de uno o varios atributos, como evidencia concluyente de límites entre especies.



# 1. Delimitación de taxones y variación geográfica

El criterio para la delimitación de las especies al interior del complejo *E. macrophyllum*, como se indicó en la introducción, es la fijación de por lo menos un atributo en una o varias poblaciones, sin embargo, al interior de una especie polimorfa de amplia distribución es normal que se presenten patrones geográficos de variación morfológica que evolutivamente pueden corresponder a especies incipientes, ecotipos o incluso especies crípticas, y a las que algunas veces se les asigna alguna categoría taxonómica infraespecífica, es por esto que en el presente capítulo se dedica una parte a la descripción de esta variación y a la búsqueda de patrones morfológicos concordantes con áreas de distribución.

La descripción de la variación geográfica se realizó mediante dos aproximaciones, por un lado, un estudio morfométrico con la aplicación de un análisis discriminante (AD) a fin de poder detectar patrones de variación con base en la medición de variables continuas en órganos reproductivos y vegetativos, concordantes con rasgos de la distribución. Por otro lado, se realizaron observaciones detalladas en un carácter crítico en el grupo como es la forma de los lobos del cáliz, estas observaciones no incluyeron mediciones ni análisis estadísticos sino el registro directo de la morfología sobre el material estudiado.

Debido que la robustez de los análisis estadísticos depende de la cantidad de unidades de muestreo (especímenes), solo se realizó el análisis morfométrico para una de las cuatro especies en las que el AAP discriminó al complejo (*Erythroxylum macrophyllum* sens. str.), para las otras no se contaba con más de 20 especímenes, por lo que no se aplicó este análisis. Las observaciones sobre la variación en la forma de los lobos del cáliz también se realizaron solo sobre esta especie, pues las otras comprenden ámbitos de distribución restringidos, y la forma de los lobos del cáliz es altamente homogénea.

Con el fin de visualizar la representatividad del material incluido en el estudio por zonas geográficas y la variación en la riqueza de poblaciones locales determinadas en el AAP, a lo largo de la distribución del complejo, se elaboraron los mapas correspondientes. Estos mapas ofrecen información sobre las zonas en las cuales se concentra la mayor variación morfológica y su correspondencia con la cantidad de muestras proveniente de dichas zonas. Las zonas más ricas en poblaciones, es decir las que presentan mayor cantidad de variación morfológica concentrada en menor área, pueden ser a su vez donde se concentra la mayor variación genética, lo cual tiene claras implicaciones en términos de la historia evolutiva del linaje y de la determinación de zonas prioritarias de conservación.

## 1.1. Materiales y métodos

### 1.1.1. Material examinado

Se examinaron más de 300 especímenes del complejo *Erythroxylum macrophyllum* depositados en las siguientes colecciones: Herbario Nacional Colombiano (COL), New York Botanical Garden (NY), Missouri Botanical Garden (MO), Smithsonian Museum of Natural History (US), Field Museum de Chicago (F), Universidad de Antioquia (HUA), Universidad del Valle (CUVC), instituto de Investigaciones Amazónicas SINCHI (COAH), Universidad del Quindío (HUQ), Universidad Tecnológica del Chocó (CHOCO), Universidad Industrial de Santander (UIS), Universidad del Cauca (CAUP), Universidad Nacional, sede Medellín (MEDEL) y Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe (JAUM). Los especímenes y las localidades son listados en el Anexo A.

Para unos pocos taxones solo fue posible el examen de los ejemplares tipo por medio de fotografías en alta resolución, a las que se accedió por medio del sistema online JSTORE Plant Science (<http://plants.jstor.org/>).

### 1.1.2. Análisis de agregación de poblaciones

Para el análisis de agregación de poblaciones (AAP), fueron seleccionados los atributos (potenciales caracteres) y codificados como doble-estado, estos se registraron para cada espécimen estudiado, excluyendo material infértil. El criterio para seleccionar los atributos es un elemento crucial en este método, para esto se debieron incluir aquellos que tradicionalmente han sido usados para separar especies en el género y agregar algunos que a partir de una inspección previa se consideraron potencialmente útiles para diferenciar taxones. En el método es importante distinguir entre “rasgos” y “caracteres”, los primeros son atributos no fijados en la especie, en tanto que los caracteres son atributos presentes en todos los individuos de la especie.

Cada espécimen registrado se asignó a una población local, para esto fue necesario tener en cuenta, tanto la proximidad geográfica entre las localidades de colección como una alta similitud morfológica entre especímenes, a fin de tener elevada certeza de que los individuos corresponden a una misma población reproductiva, y que por tanto dichas poblaciones pueden constituir la unidad básica de análisis. Es de considerar que la selección de estas poblaciones se realiza *a priori*, pues constituye un paso básico en el desarrollo del método y el análisis asume que esta definición de las poblaciones es adecuada, este constituye un factor de posible error en el método, sin embargo en términos prácticos la posibilidad de que en una población se incluyan especímenes de especies distintas es muy baja.

La matriz inicial de 306 especímenes incluyó el registro de 28 atributos (Tabla 3), la mayoría de estos (18) fueron extraídos de la hoja, esto se debe a que por un lado, los caracteres foliares han sido los más útiles para separar especies en el género, dado que la morfología floral es altamente conservativa, y a que solo cerca de la mitad del material revisado contaba con flores, los demás presentaban frutos en diferentes etapas de desarrollo.

Tabla 3. Atributos registrados para cada espécimen estudiados del complejo *Erythroxylum macrophyllum*.

Atributo		Atributo	
1	Hábito arbóreo	16	Margen de la lámina ondulado
2	Base de la hoja cuneada	17	Margen de la lámina plano
3	Base de la hoja redondeada	18	Venas secundarias impresas por la haz
4	Base de la hoja atenuada	19	Venas secundarias planas por el envés
5	Base de la hoja cóncava	20	Envés de las hojas ceroso-blanquecino
6	Base de la hoja convexa	21	Catafilos congestos hacia el ápice
7	Base de la hoja truncada	22	Setas de las estípulas separándose entre 1/2 y 2/3 de la estípula
8	Ápice de la hoja redondeado	23	Ápice de las estípulas obtuso
9	Ápice de la hoja largo-acuminado	24	Catafilos persistentes
10	Forma de la hoja obovada	25	Catafilos dísticos-imbricados
11	Forma de la hoja oblanceolada	26	Fascículos dísticos
12	Forma de la hoja ovada	27	Fascículos apicalmente congestos
13	Forma de la hoja elíptica	28	Lobos del cáliz triangulares
15	Forma de la hoja oblonga		

A partir de esta primera matriz de datos, se procedió a resumir la información, realizando un perfil por población en el que por cada carácter se registra si está fijado en la población (1), si es ausente (0), o si se presenta pero no está fijado ( $\pm$ ), caso en el cual también se registró el número de presencias (a) respecto a las ausencias b, (a: b).

Luego se compararon consecutivamente todos los perfiles de las poblaciones, asignando a una misma especie a aquellas poblaciones indistinguibles por al menos un carácter (fijado en una y ausente en otra), al final de este procedimiento se pueden evidenciar las poblaciones o grupos de poblaciones que por presenta al menos un carácter fijado frente al mismo carácter ausente en las demás se consideran especies como tal (Anexo B), los nombres de las poblaciones se codificaron de acuerdo a las primeras letras del país donde crecen mayoritariamente, la especie nominal a la que *a priori* pueden asignarse, y un número consecutivo.

Las dos principales fuentes de error del método AAP, tal como lo reconocen Davis & Nixon (1992) son; 1) la inclusión de muy pocos atributos puede producir la subestimación del número de especies, debido a que se pueden estar ignorando los caracteres diagnósticos y 2) la inclusión de muy pocos especímenes, puede generar la sobreestimación del número de especies, dado que rasgos polimorfos pueden ser interpretados erróneamente como caracteres fijados, por no incluir los especímenes que muestran la variabilidad del atributo. No obstante estas no son limitaciones exclusivas de AAP, pues de hecho, la mayoría de estudios empíricos y discusiones conceptuales sobre delimitación de especies no consideran el problema del error de muestreo o al menos no lo hacen de manera rigurosa (Document\_not\_found, n d).

### 1.1.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo para *E. macrophyllum* y no para las otras especies que fueron discriminadas con el AAP, pues solo esta especie tiene un número óptimo de datos para este tipo de análisis.

Un primer análisis discriminante (AD) fue realizado para los grupos conformados por los taxones nominales *E. amplum* (AMPLU), *E. costaricensis* (COSTA), *E. floribundum* (FLORI), *E. laurinum* (LAURI), *E. lucidum* (LUCID), *E. macrocnemium* (MACNM), *E. macrophyllum* (MACRO), *E. multiflorum* (MULTI), *E. skutchii* (SKUTC) y *E. tabasense* (TABAS) y un grupo adicional conformado por algunos especímenes de la Amazonia que no se lograron asociar a ninguna de las especies nominales (AMAZO). Un segundo AD fue realizado, reconfigurando los grupos con base en los resultados del anterior análisis.

Con el fin de abarcar de manera eficiente la mayor cantidad de variación intra-individual, para cada una de las variables, se realizaron dos medidas en cada espécimen, seleccionando estructuras disímiles (p. ej. dos estipulas de distinto tamaño). Las mediciones de las hojas fueron tomadas con una regla de 1 mm de precisión, mientras que las demás mediciones se realizaron con un micrómetro de 0.01 mm de precisión. Se examinaron las siguientes variables cuantitativas: Diámetro de las ramas aproximadamente 5 cm debajo del ápice de la rama (DRAM), longitud total de la lámina foliar en hojas completamente desarrolladas (HLON), ancho total de la lámina foliar en hojas completamente desarrolladas (HANC), longitud de los peciolas (PLON), longitud de las estipulas, medida desde la parte interna en donde hace contacto con el peciolo, y excluyendo las setas terminales (ELON), longitud de las bracteolas, excluyendo la seta terminal (BLON), número de flores por fascículo (NFLO), longitud de los pedicelos (PLON), longitud del cáliz (CLON) y longitud de los lobos del cáliz (LLON), también se registró la altura del individuo reportada en las etiquetas, aunque no se usó en los análisis de ordenación.

La mayoría de variables corresponden a caracteres vegetativos dado que de las muestras fértiles, aproximadamente la mitad se encontraron con frutos maduros o en la transición entre flor y fruto, cuando han perdido ya pétalos y estambres.

Se depuraron los datos descartando los individuos que presentaron menos del 50 % de las medidas, quedando 284. Se realizó imputación de datos faltantes mediante el algoritmo



“imputePCA” del paquete missMDA para el programa R 2.13. Par los AD se utilizó XLSTAT 2011.2.05.

Además del análisis estadístico se describió la distribución y riqueza de las poblaciones del complejo, usando el programa DIVA-GIS 7.1.7.2. para la elaboración de los mapas (Hijmas, n d).

## 1.2. Resultados

### 1.2.1. Análisis de agregación de poblaciones

Se identificaron 73 poblaciones locales y 4 especies (Anexo 2), adicionalmente, tres especímenes presentan atributos exclusivos, sin embargo debido a la escasa representatividad no se consideraron especies separadas, dado que los caracteres distintivos pueden tener causas solo accidentales, debidas a aberraciones de tipo genético o de origen ambiental, es necesario aguardar al hallazgo de mas especímenes para confirmar su estatus taxonómico.

Se registraron 24 poblaciones en Centroamérica, 10 entre Nicaragua y México y 14 en Panamá y Costa Rica, y 49 en Suramérica (Anexo B), entre 1 y 21 especímenes se registraron por población (en promedio 4.3), siendo Colombia el país con más poblaciones (14), seguido por Perú con 12 y Ecuador con 11. Considerando las extensiones territoriales puede considerarse que en Ecuador se centra la mayor diversidad de formas del complejo.

Los cuatro grupos de poblaciones consideradas especies, las cuales se describen en detalle en el capítulo 3, fueron las siguientes:

#### **Especie 1 (*Erythroxylum macrophyllum*)**

La mayoría de las poblaciones (63) resultan indistinguibles por al menos un carácter, entre las que se encuentra la población típica de *E. macrophyllum*. Sin embargo, al interior de este grupo algunas poblaciones presentan rasgos poco frecuentes, entre estos: base de las hojas atenuadas, presente solo en cinco poblaciones; base de la hoja truncada, presente pero no fijado solo en la población “COSLUC01” de Costa Rica y hojas con venas secundarias impresas por la haz solo en 6 poblaciones (Anexo 2). Una descripción detallada de la variación geográfica de esta especie se presenta en el numeral 1.2.2.

#### **Especie 2 (sp. nov. 1)**

De esta especie solo se conocen tres especímenes, dos la región del Darién (una en Panamá y otra en Colombia) y otra de la zona baja de la Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia). Esta especie, además de presentar el cáliz triangular, condición poco frecuente en el complejo, las setas de las estípulas se desprenden de la lámina no muy cerca al ápice como ocurre en todos los especímenes de *E. macrophyllum* estudiados, sino entre  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{2}{3}$  de la estípula, y el ápice de las mismas es obtuso, no agudo como en las demás poblaciones.

#### **Especie 3 (sp. nov. 2)**

Esta se compone por una población localizada en límites entre Brasil y Bolivia. En la exploración previa en busca de atributos particulares se encontró que algunos especímenes de esta región muestran en hojas jóvenes una capa cerosa blanquecina por el envés, junto a

otros rasgos como hojas redondeadas al ápice, el cual es un atributo poco frecuente. Posteriormente se hicieron cortes histológicos de hoja, y se encontró que el envés foliar presenta papilas, lo cual no se encontró en ningún espécimen del complejo, reforzando su identidad como especie.

**Especie 3 (*E. macrophyllum* var. *savannarum*)**

La cuarta especie está conformado por dos poblaciones que corresponden a lo que actualmente se conoce como *Erythroxylum macrophyllum* var. *savannarum* Plowman. Este taxón se diferencia por dos caracteres, la disposición de los fascículos, axilares a catafilos dísticos e imbricados y las estípulas largamente persistentes. Por otro lado, el taxón muestra algunos rasgos poco comunes en el complejo como su cáliz triangular.

### **1.2.2. Variación geográfica**

#### **Análisis morfométrico**

El análisis discriminante muestra diferencias significativas para algunos grupos, tanto en la matriz clasificatoria (Tabla 4) como en el gráfico de valores canónicos (Figura 1-1). Las comparaciones ortogonales del primer AD diferencian algunos grupos en los dos primeros ejes, que corresponden al 64.7% de la variación total y se encuentran ampliamente correlacionados con la variables: DRAM, HLON, HANC y BLON (datos no mostrados). Las combinaciones del tercer discriminante con el primero y el segundo, muestran a grandes rasgos las mismas agrupaciones. *E. skuthkii* (SKUTH), *E. tabascense* (TABAS) y *E. laurinum* (LAURI) presentan los más bajos porcentajes de asignación correcta en el AD. Por encima del 80 % de correcta asignación se presentan AMAZO, grupo amazónico no asignado a ninguna especie nominal, pero diferenciable *a priori* de las demás especies por el caliz pequeño y hojas grandes (diferenciándose de *E. amplum* por rasgos de la venación foliar), también con una alto porcentaje de asignación correcta se presentan *E. costarricense* (COSTA), *E. lucidum* (LUCID), *E. macrocnemium* (MACNM) y *E. multiflorum* (MULTI).

Tabla 4. Matriz clasificatoria del análisis discriminante (AD) para las especies nominales de *Erythroxylum macrophyllum*, mostrando los individuos correctamente ubicados. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) para la correcta ubicación es de  $P \leq 0.05$ . El número de los grupos en la fila superior corresponden a los de la primera columna.

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Total	% correcto
AMAZO (1)	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	<b>83,33</b>
AMPLU (2)	0	13	0	2	0	1	0	3	0	0	1	20	65,00
COSTA (3)	0	0	32	0	0	7	0	0	0	0	1	40	<b>80,00</b>
FLORI (4)	0	2	0	6	0	0	0	0	0	0	2	10	60,00
LAURI (5)	0	0	0	0	4	3	0	0	0	0	1	8	50,00
LUCID (6)	0	2	1	0	0	93	1	1	0	1	1	100	<b>93,00</b>
MACNM (7)	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	6	<b>83,33</b>
MACRO (8)	2	3	0	0	0	6	0	21	0	1	2	35	60,00
MULTI (9)	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	<b>100,00</b>
SKUTC (10)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	33,33
TABAS (11)	0	0	2	0	2	15	0	1	0	0	8	28	28,57
Total	7	22	35	8	6	126	6	27	4	3	16	260	73,85

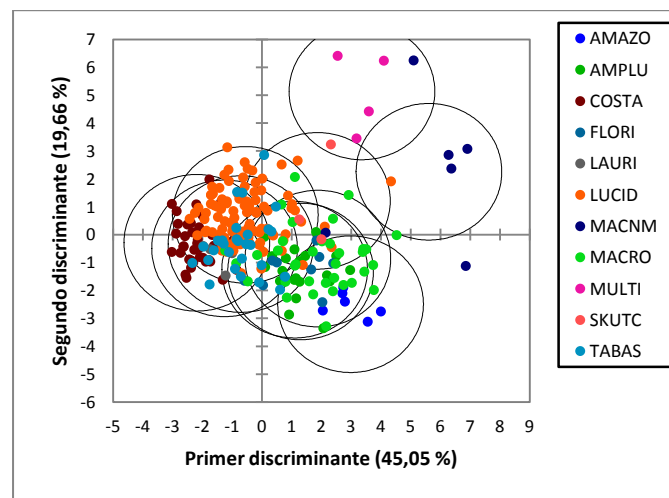


Figura 1-1. Gráfico con regiones de confianza de 95% para los dos primeros ejes derivados del análisis discriminante para las especies nominales *Erythroxylum macrophyllum*.

En el segundo AD realizado con base en los grupos definidos en el análisis previo, tanto en la comparación ortogonal como en la función clasificatoria. Se presentan dos escenarios, el primero incluyendo solamente los grupos con más del 80% de asignación correcta (Figura 1-2A) y el segundo incluyendo *E. macrophyllum* (MACRO) y *E. amplum* (AMPLU) como un grupo diferente Figura 1-2B. En el segundo caso puede verse que *E. macrophyllum* se sobrelapa ampliamente con *E. lucidum* y con AMAZO, pero se separa ampliamente de *E. costaricense*.

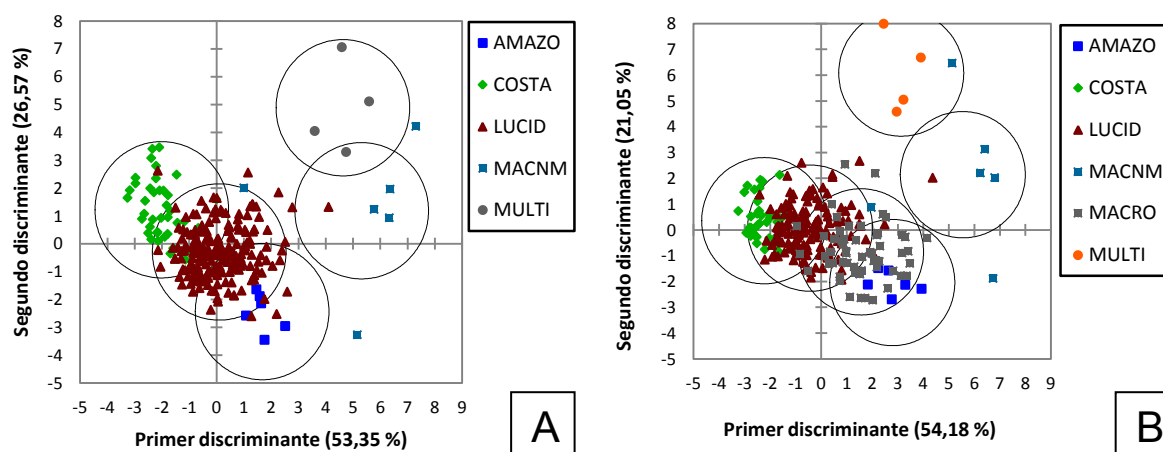


Figura 1-2. Gráfico con regiones de confianza del 95% para los primeros dos ejes derivados del segundo análisis discriminante (AD) para los grupos discriminados en el primer AD, con (A) grupos incluyendo a *E. macrophyllum* en *E. lucidum* (LUCID). (B) incluyendo a *E. macrophyllum* (MACRO) como grupo separado

Pese al bajo porcentaje de asignación correcta de *E. macrocnemium* en la matriz clasificatoria (Tabla 5), en el gráfico bivariado del AD se separa significativamente de los demás grupos (Figura 1-2) y puede separarse de los demás grupos por presentar hojas de más de 30 cm de largo y solo presente en la alta Amazonia. De forma similar el grupo AMAZO puede discriminarse claramente aunque sin caracteres diferenciales tan evidentes como en *E. macrocnemium*.

La forma *E. costaricense* se distribuye desde el norte de Colombia hasta el sur de Nicaragua, muestra un bajo porcentaje de asignación correcta (Tabla 5), con 10 individuos asignados a *E. lucidum* y en el gráfico del AD se muestra en un extremo de la variación (Figura 1-2), contigua también a *E. lucidum*. Se caracteriza por presentar hojas de tamaño pequeño ( $5.5 \pm 1.8$ ,  $N=40$ ) a ( $7.7 \pm 1.8$ ,  $N=40$ ), aunque no se lograron identificar límites discretos en ninguna de las variables mediadas con *E. lucidum*.

Tabla 5. Matriz clasificatoria del AD para los cinco grupos reconfigurados, mostrando los individuos correctamente asignados. El nivel de significancia ( $\alpha$ ) del correcta asignación es  $P \leq 0.05$ . Los números en la fila superior corresponden a los grupos de la primera columna.

Grupo	1	2	3	4	5	Total	% correcto
AMAZO (1)	5	0	1	0	0	6	83,33%
COSTA (2)	0	30	10	0	0	40	75,00%
LUCID (3)	2	2	199	1	0	204	97,55%
MACNM (4)	1	0	1	4	0	6	66,67%
MULTI (5)	0	0	0	0	4	4	100,00%
Total	8	32	211	5	4	260	93,08%

Pese a que el análisis estadístico discrimina pocas forma dentro de *E. macrophyllum*, debido a la presencia de formas intermedias en todos los caracteres evaluados, es posible reconocer patrones de variación en algunos rasgos difíciles de codificar como la forma del cáliz, entre grupos de poblaciones. A continuación se describirán estos patrones para las poblaciones, desde las más septentrionales hasta las meridionales. Cabe aclarar que cada uno de los mapas mostrados a continuación no representa agrupaciones, el ámbito de cada mapa obedece a la conveniencia en la presentación de los registros.

### Poblaciones entre Nicaragua y México

Entre Nicaragua y México (no se tienen registro de El Salvador) se presentan 9 poblaciones, (Figura 1-3) y con excepción de la población "NICOS01", la mayoría son especímenes de hojas de mediana longitud ( $13.2 \pm 4.1$  cm,  $N=38$ ) y cáliz corto ( $3 \pm 0.9$  mm,  $N=38$ ), correspondiendo a grandes rasgos con las características del espécimen tipo de *E. tabascense*, del sur de México.

### Poblaciones en Costa Rica y Panamá

En estos dos países se registraron 14 poblaciones (Figura 1-4), destacándose la presencia de formas sustancialmente divergentes morfológicamente de la mayoría de las poblaciones que se presentan entre Nicaragua y México, tal es el caso de la población “COSLUC01”, del nor-oriente de Costa Rica, la cual se caracteriza por sus hojas pequeñas ( $7.6 \pm 1.8$  cm, N=21), de igual manera, la población “COSKU01”, por las hojas grandes ( $21.6 \pm 8$  cm, N=3), la cual corresponde a la especie descrita como *E. skutchii*, la cual pese a tener hojas considerablemente más grandes que la mayoría de poblaciones de Centroamérica, no muestra ningún carácter verdaderamente diagnóstico que permita mantener su estatus de especie. En Panamá, se presenta la particular población “PANCOS02”, que por el cáliz profundamente dividido y hojas de margen plano, según D'Arcy & Schanen (1975) podría corresponder a una especie nueva, “PANMUL01” de la región del Canal de Panamá, la otra población de hojas grandes de Centroamérica, y descrita como *E. multiflorum* tampoco fue soportada por los análisis como un taxón diferenciado, las demás poblaciones corresponden en mayor o menor grado con el tipo de *E. lucidum sens. str.*, aunque con formas intermedias con *E. macrophyllum* como “PANMAC01” y “PANLUC03”.

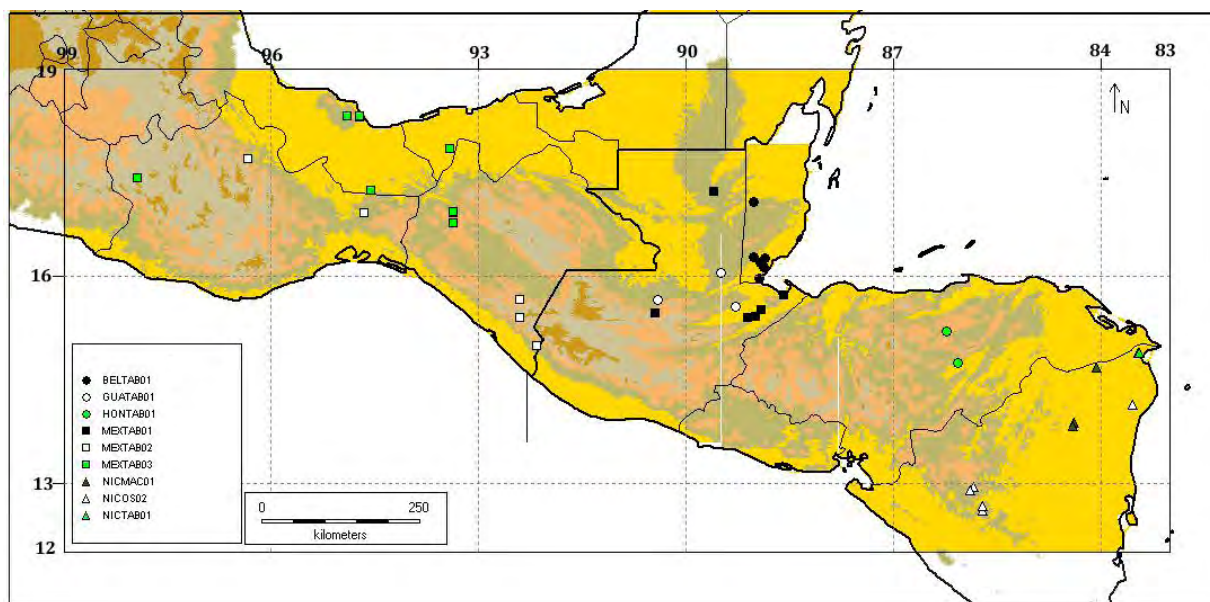


Figura 1-3. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* entre Nicaragua y México

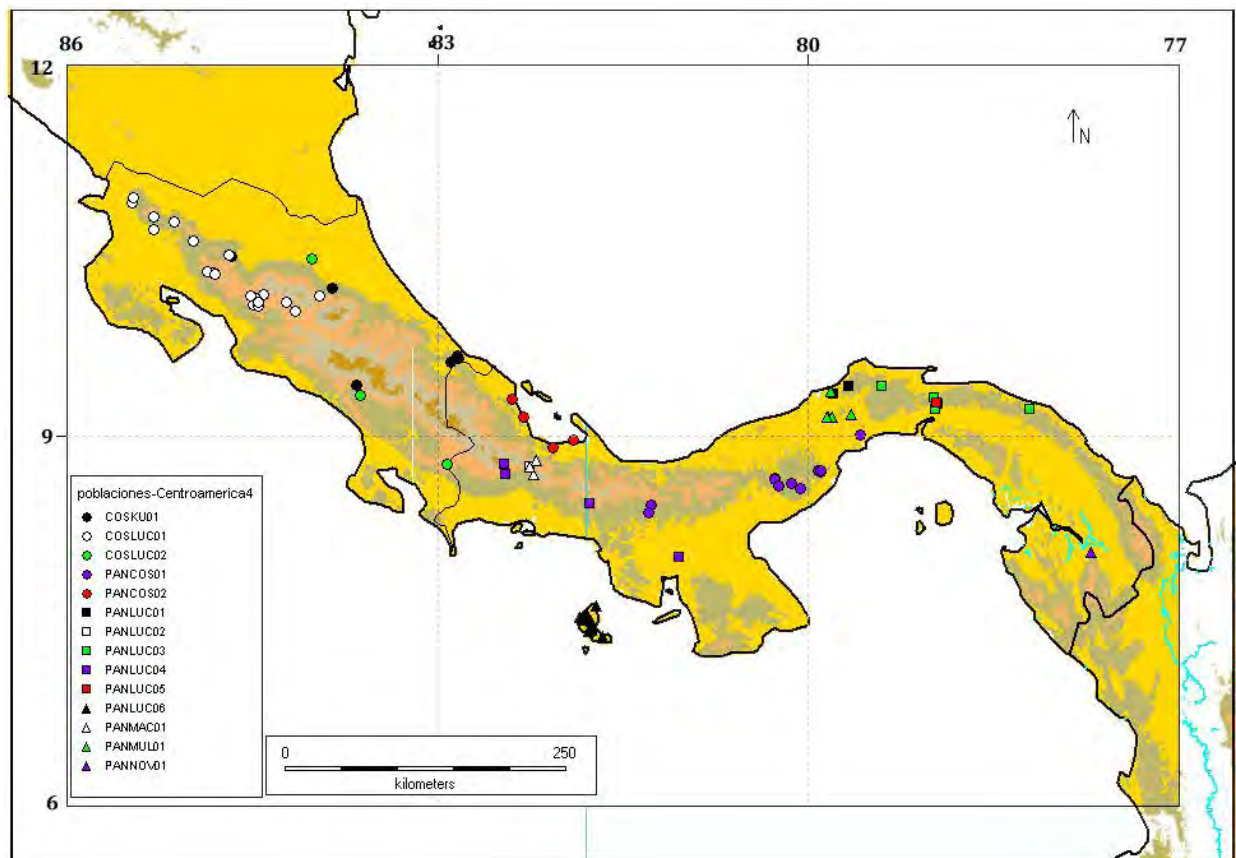


Figura 1-4. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* en Panamá y Costa Rica

### Poblaciones de Colombia y Venezuela (excluyendo Amazonia)

En las regiones Pacífica, Atlántica y Andina de Colombia y Andina de Venezuela presentan 15 poblaciones (Figura 1-5). Las poblaciones corresponden más o menos a *E. lucidum* sens. str., en la región del chocó biogeográfico, la longitud de las hojas ( $16 \pm 1.4$  cm, N=7) es superior al de la forma típica de *E. lucidum* ( $10 \pm 2.1$  cm, N=17), como cabría esperarse por las condiciones climáticas de esta región, aunque las hojas de mayor tamaño se presentan en la Amazonia. En la Orinoquia de Venezuela y Colombia no se presentan registros de la especie, siendo “reemplazada” por las poblaciones “COLSAV01” y “VANSV01”, que corresponden a *Erythroxylum macrophyllum* var. *savannarum* que como se pudo establecer con el AAP, deben ser asignadas al estatus de especie. En la Guyana Venezolana tampoco se encontraron registros, por lo cual el número de especímenes en Venezuela es considerablemente inferior al de países vecinos.



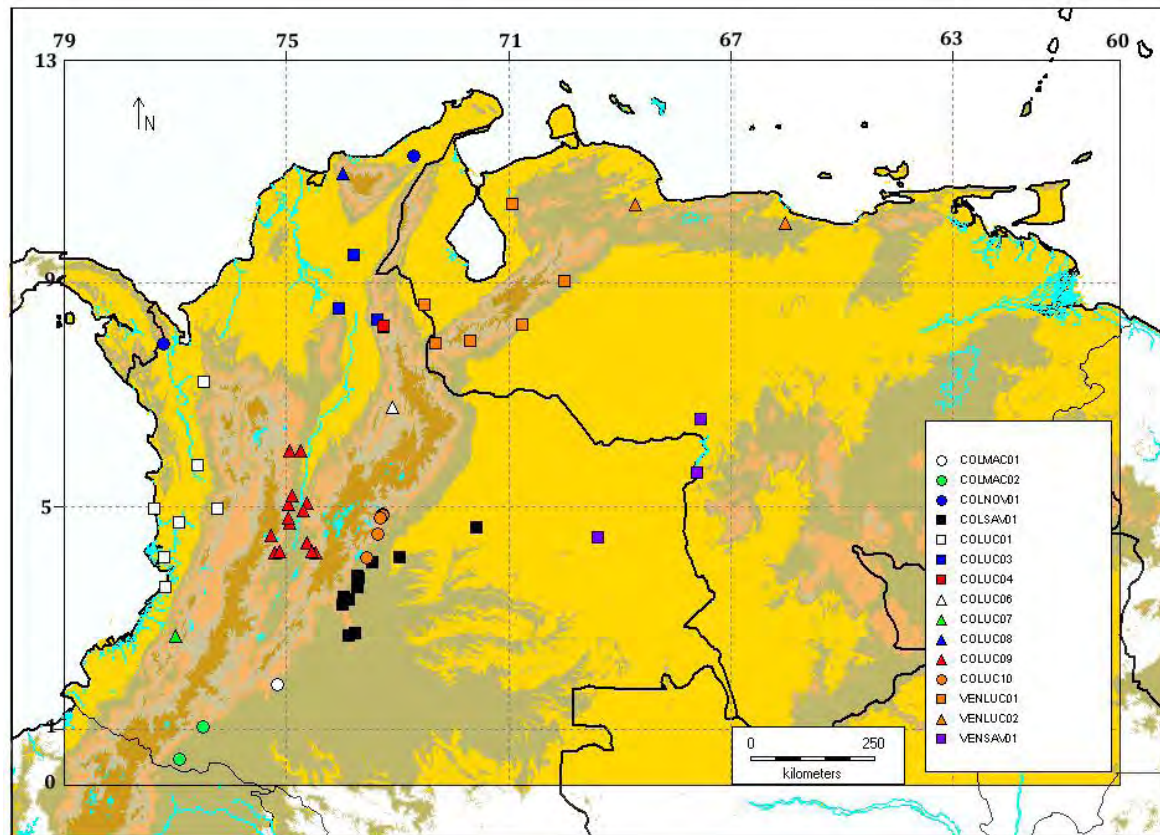


Figura 1-5. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* en Colombia y Venezuela (Excepto Amazonia de Colombia).

#### **Poblaciones de Ecuador y Perú (excluyendo el norte de la Amazonia peruana)**

En esta zona se presentan 14 poblaciones, 9 de estas de Ecuador (Figura 1-6). En la vertiente occidental de los Andes de Ecuador y Perú, no se presentan registros del complejo, en estos países los registros se localizan en su porción amazónica o vertiente oriental de los Andes (con excepción de un registro al norte de Ecuador en la provincia de Esmeraldas). En la zona amazónica de Ecuador, se presenta una de las máximas concentraciones de formas distintas por área. Los registros de piedemonte y andes de Perú concuerdan en su mayoría con *E. lucidum*.



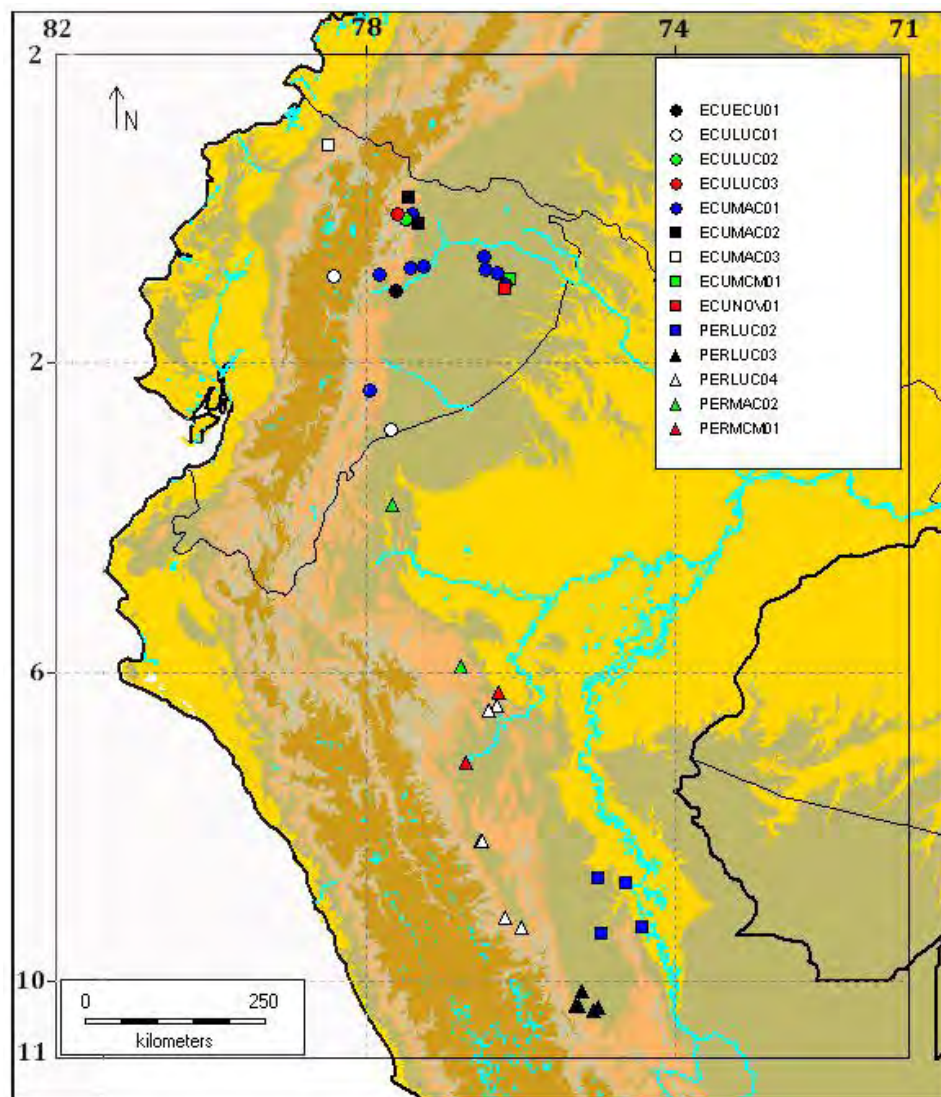


Figura 1-6. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* de Ecuador y piedemonte de Perú.

#### **Poblaciones de Bolivia y Occidente de Brasil**

En Bolivia y los estados de Acre, Mato Grosso y Rondonia se registraron 7 poblaciones (Figura 1-7), dos de estas; “BRANOV01” y “BOLNOV01”, corresponden a una especie nueva la cual se describe en el capítulo 3. Las poblaciones cercanas a los andes de Bolivia guardan estrecha similitud con las del sur de Perú, correspondiendo a grandes rasgos con *E. lucidum*.

#### **Poblaciones del alto Amazonas de Brasil, Colombia, Perú**

En el alto Amazonas y cuenca del Rio Negro se presentan 13 poblaciones (Figura 1-8), predominando las poblaciones BRAMAC01 y COLMAC01B, las cuales incluyen especímenes tradicionalmente incluidos en la especie *Erythroxylum amplum*. Los registros de la población BRAMAC01 se encuentran más dispersos que en las demás poblaciones, los especímenes de esta población muestra una gran homogeneidad morfológica, razón por la cual se decidió agruparlos. En la amazonia peruana, específicamente en cercanías a la confluencia de los ríos Napo y Marañón, se presenta uno de las mayores concentraciones de poblaciones.

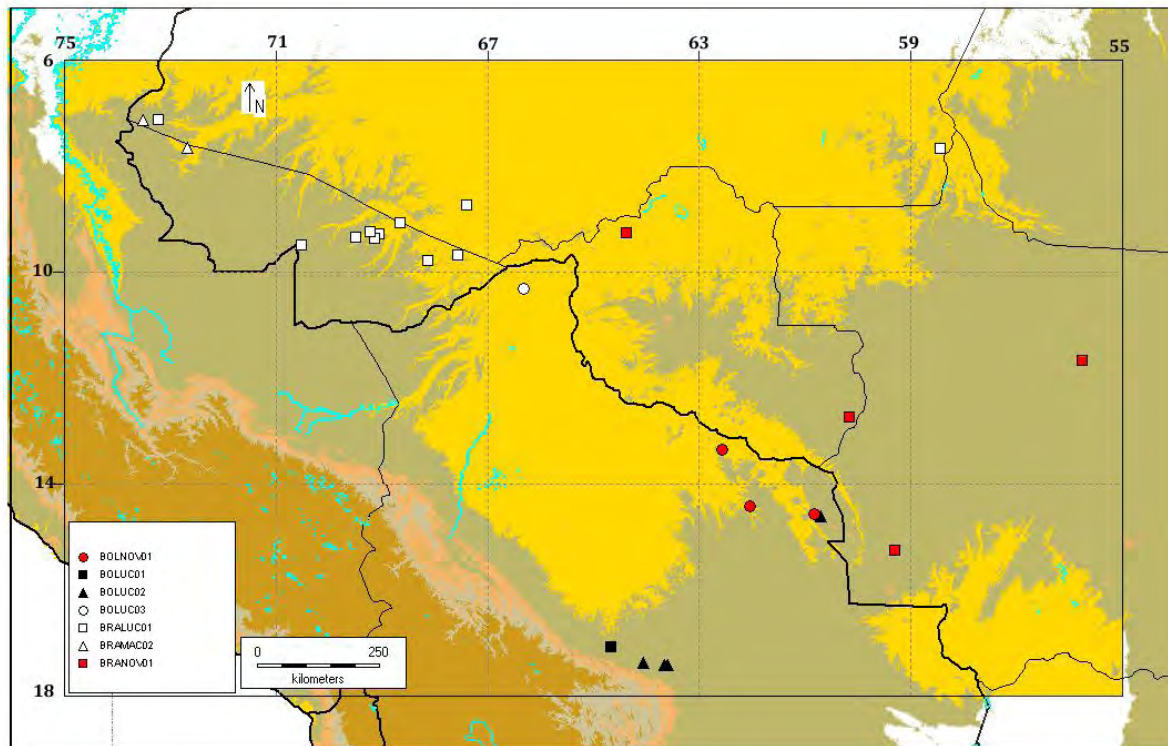


Figura 1-7. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* de Bolivia y occidente de Brasil.

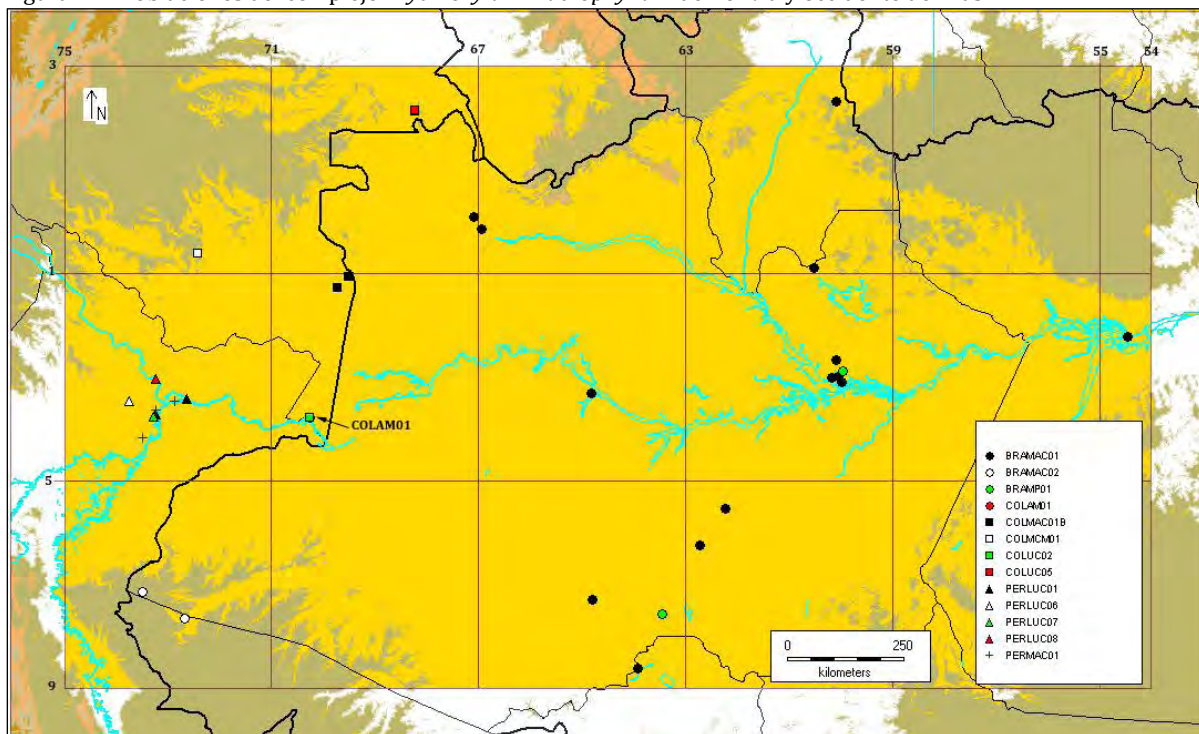


Figura 1-8. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* de la alta Amazonia, incluyendo registros de Brasil, Colombia y Perú.



### Poblaciones del bajo Amazonas y las Guayanas

En esta región se presentan cuatro poblaciones (Figura 1-9), entre estas la población típica de *E. macrophyllum* de la Guyana. BRAFLO01, corresponde a *E. floribundum* y *E. filipes*, especies descritas para el estado de Pará, y caracterizadas por su cáliz pequeño ( $2.4 \pm 0.1$  mm,  $N=9$ ) y por la alta cantidad de flores por fascículo ( $22 \pm 9$ ,  $N=9$ ).

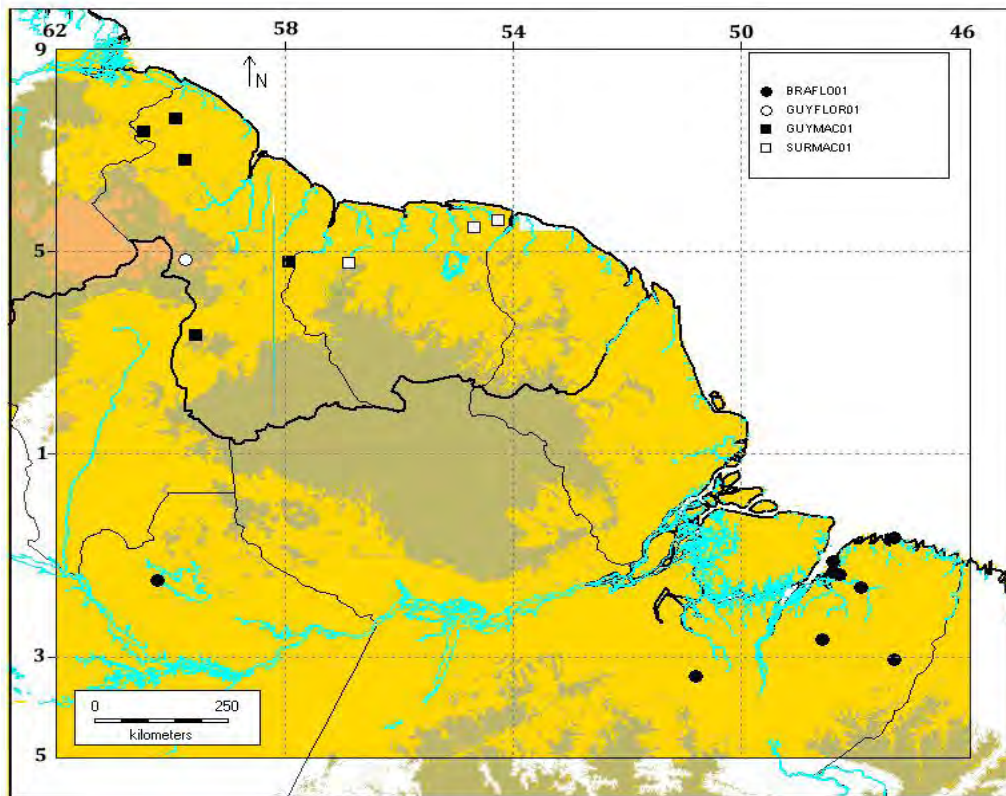


Figura 1-9. Poblaciones del complejo *Erythroxylum macrophyllum* en Guyana, Guyana Francesa, Surinam y bajo Amazonas

### Riqueza de poblaciones

La mayor riqueza de poblaciones se presenta en el norte del Amazonas peruano (Figura 1-10A), cerca de la confluencia entre los ríos Napo y Marañón, otros centros importantes de riqueza se presentan en la cuenca alta del río Ucayali en el piedemonte andino-amazónico peruano, en la cuenca alta del río Napo en Ecuador, en el centro de Panamá y en el norte de Costa Rica.

Las zonas que presentan ya mayor cantidad de registros son el norte de Costa Rica y el centro de Panamá, y en segundo lugar el occidente de Panamá, el valle del río Magdalena en los departamentos de Tolima, Cundinamarca y Antioquia y el piedemonte andino-amazónico ecuatoriano en la cuenca del río Napo (Figura 1-10B).

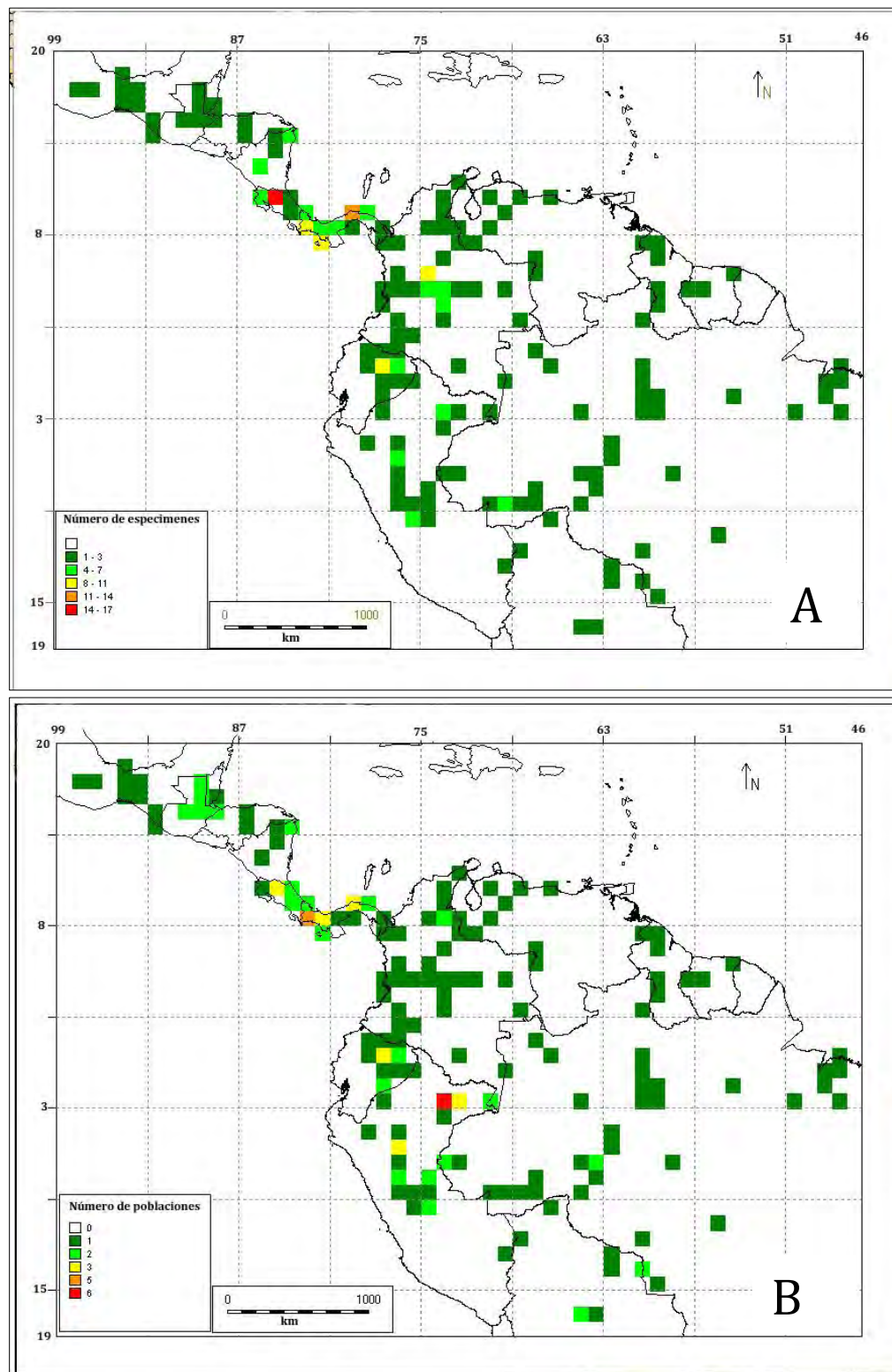


Figura 1-10. Gradilla con celdas de 1° x 1° representando: A) Riqueza de poblaciones del complejo *E. macrophyllum* por celda, B) Número de especímenes del complejo *E. macrophyllum* registrados en cada celda.

### Variación de la forma del cáliz

La forma ampliamente ovada y abruptamente acuminada de los lobos del cáliz permite reconocer a *E. macrophyllum*, sin embargo, dentro de estos rasgos generales, se presenta una amplia variación en las formas, las cuales en numerosos casos pueden asociarse a determinadas áreas de distribución (Figura 1-11), aunque son difícilmente codificables como condiciones discretas.

Las forma más típica se presenta en tres áreas, en la Guyana, en el norte de la Amazonia peruana y en Nicaragua, y formas similares a esta pero con los lobos más cortos se presentan en México, Panamá, Andes de Colombia y Chocó. Al sur de Perú y norte de Bolivia los lobos del cáliz son más oblongos y en el norte de la Amazonia peruana se encontraron dos especímenes con lobos lanceolados. En el alto Amazonas, la mayoría de los especímenes examinados presentan lobos casi triangulares y coriáceos, mientras que en el bajo Amazonas se los lobos del cáliz son pequeños y membranáceos (Figura 1-11).



Figura 1-11. Variación de la forma del cáliz en *E. macrophyllum*.

### 1.3. Discusión

De acuerdo a la evidencia mostrada en el AAP, el complejo *Erythroxylum macrophyllum* está constituido por cuatro especies, dos de estas sin describir. *Erythroxylum macrophyllum* presenta una alta variabilidad a lo largo de su distribución, mostrando algunas tendencias en caracteres morfológicos concordantes con patrones de distribución.

Vale la pena resaltar algunos aspectos de la distribución de *E. macrophyllum*, entre estos, el hecho de la ausencia de la especie en la vertiente occidental de los Andes de Ecuador y Perú, la cual en principio puede obedecer a las condiciones secas de la costa peruana y del sur de Ecuador, pero si se tiene en cuenta que la especie se presenta también en ambientes secos como en el valle alto del Magdalena (Colombia), y que los ambientes del norte de Ecuador son de selva tropical, no resulta explicable este rasgo de la distribución en términos de la humedad ambiental. Otros vacíos en la distribución que difícilmente pueden atribuirse a falta de muestreo se presentan en la región de los llanos de Colombia y Venezuela y en los afloramientos Guyaneses, este hecho permite suponer exigencias en la riqueza del suelo para el desarrollo de la especie. La especie tampoco se ha registrado en la región del Darién entre Colombia y Panamá, pues los registros de esta zona corresponden a una nueva especie (*Erythroxylum* sp. nov. 1), descrita en el capítulo 3.

Tanto en el número de registros como en la riqueza de formas (poblaciones), se presentan picos en Panamá y Costa Rica, y en la Amazonia peruana y ecuatoriana, y baja diversidad de formas entre estas dos áreas, como es el andén pacífico y valles interandinos de Colombia. El norte de la Amazonia peruana muestra la mayor riqueza de poblaciones (Figura 1-10), pese a que la representatividad de registros es más baja que en otros centros de riqueza como Panamá y Costa Rica.

#### ***Implicaciones taxonómicas***

Es necesario incluir nuevamente en la sinonimia de *Erythroxylum macrophyllum* a *E. skutchii* y a *E. amplum*, las cuales han sido consideradas especies válidas en publicaciones recientes (Plowman & Hensold, 2004a), (Document\_not\_found, n d), la primera se diagnosticaba según la descripción original por tener las venas impresas por la haz y prominentes por el envés, sin embargo, se encontró que si bien estos atributos son poco frecuentes, se presentan en otras poblaciones.

En cuanto a *E. amplum* no se encontraron caracteres fijados que permitieran diferenciarla, pues la forma triangular de los lobos del cáliz, que se usaba como diagnóstica para la especie, se encontró presente pero no fijada en otras 3 poblaciones (Anexo B), además la revisión del espécimen tipo de *Erythroxylum amplum* mostró que estos corresponden con las poblaciones de *E. macrophyllum* comunes en el medio y alto Amazonas de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú. La observación del desarrollo del cáliz en especímenes de estas poblaciones muestra que en flores jóvenes como las de los especímenes tipo de *E. amplum* los lobos son triangulares, sin embargo, con el desarrollo de la flor su morfología se aproxima a la forma típica de *E. macrophyllum*, aunque sin llegar a ser foliosos. *E. multiflorum* de la región del canal de Panamá podría considerarse una variedad de *E. macrophyllum* dado que constituye un grupo definido de acuerdo al AD, sin embargo no se presentan rasgos claramente distintivos que permitan reconocer la variedad de otras formas locales, y su comportamiento

en el AD podría obedecer a la densidad de muestreo en la zona y como consecuencia la uniformidad morfológica de los especímenes, por esta razón tentativamente no se reconocerá en ninguna categoría taxonómica.

En cuanto a las variedades actualmente aceptadas de *E. macrophyllum*: *E. macrophyllum* var. *savannarum*, debe ser asignada al estatus de especie, dados los criterios que se tuvieron en cuenta para la delimitación de especies, *E. macrophyllum* var. *ecuadorensis*, no se considerará bajo ninguna categoría taxonómica, pues se encontró evidencia de que los caracteres diagnósticos citados en la descripción original, no son exclusivos de esta forma, sino que se comparten con otras poblaciones, de las cuales se diferencia ampliamente en otros caracteres y tienen distribuciones ampliamente disyuntas, finalmente, *E. macrophyllum* var. *macrocnemium*, se mantendrá en el estatus de variedad, dado que el carácter diagnóstico de esta variedad (longitud de las hojas superior a 30 cm) no fue encontrado en ninguna otra población y puede considerarse un grupo definido de acuerdo al análisis discriminante (Figura 1-2, Tabla 5).





## 2. Posición filogenética del complejo *E. macrophyllum*

Han sido escasos los estudios que aborden el estudio de las relaciones filogenéticas de Erythroxylaceae y en particular de *Erythroxylum*. Sin embargo, la monofilia de la familia no ha sido puesta en duda y se sustenta en numerosos caracteres morfológicos, químicos y morfológicos. También existe fuerte evidencia, soportada en caracteres moleculares, morfológicos y anatómicos, (Setoguchi, Kosuge, & Tobe, 1999, Schwarzbach & Ricklefs, 2000, APG, 2002) sobre la afinidad entre Erythroxylaceae y Rhizophoraceae, al interior del orden Malphigiales. Los principales caracteres compartidos por las dos familias son: presencia de alcaloides de los grupos tropanos y pirrolidínicos, presencia de coléteres, yemas terminales protegidas por estípulas y embriones verdes (Judd & Olmstead, 2004).

Pese a ser un género con más de 200 especies, y de distribución pantropical, *Erythroxylum* tiene una alta homogenidad morfológica en los rasgos reproductivos y vegetativos que hacen poco discutible su monofilia y que lo diferencian ampliamente de los otros géneros de la familia, en la Tabla 6 se muestra una comparación de los rasgos más distintivos entre los cuatro géneros.

Tabla 6. Tabla comparativa de los géneros de Erythroxylaceae

Género	Posición de las hojas	Número de ovulos fértiles	Tipo de fruto
<i>Erythroxylum</i>	Alterna	Uno	Drupa
<i>Aneulophus</i>	Opuesta	Dos	Cápsula
<i>Pitecoctemium</i>	Alterna	Uno	Drupa
<i>Nectaropetalum</i>	Alterna	Uno	Drupa

Las especies del complejo *E. macrophyllum* fueron incluidas en la sección *Macrocalyx* por Shulz (1907), debido a que presentan estípulas estriadas y lobos del cáliz ampliamente ovados. Sin embargo la monofilia de la sección no ha sido evaluada, es necesario entonces poner a prueba la homología de los caracteres que diagnostican taxonómicamente la sección.

### 2.1. Materiales y métodos

#### 2.1.1. Taxones analizados

Fueron incluidas en el estudio las especies de la sección *Macrocalyx* con excepción de *E. hamigerum* por carecerse de material, se incluyeron también dos de las nuevas especies del complejo *E. macrophyllum* derivadas del análisis de agrupación de poblaciones y 16 especies de diferentes secciones de *Erythroxylum* teniendo como criterio de selección: 1) especies representativas de la distribución del género en el Neotrópico; y 2) especies representativas de los diferentes patrones morfológicos. Se tiene representación de seis de las secciones presentes en el Neotropico. No se incluyen especies Paleotrópicas, lo cual no representa un problema del muestreo pues de acuerdo a una primera exploración a la filogenia de la familia, las especies del Neotropico conforman un grupo monofilético (M. Islam *Com. pers.*). En la Tabla 7 se muestran las especies seleccionadas con la sección a que corresponden y su distribución geográfica.

Tabla 7. Secciones y especies con su distribución, representadas en el grupo externo del análisis cladístico

<b>Sección</b>	<b>Especie</b>	<b>Distribución (Plowman &amp; Hensold, 2004a)</b>
Archerythroxylum	<i>E. carthagenense</i>	Col., Ven.
Archerythroxylum	<i>E. cuneifolium</i>	Arg., Bol., Bra., Par.
Archerythroxylum	<i>E. kapplerianum</i>	Bra., Col., Gui. Fr., Gui., Sur., Ven.,
Archerythroxylum	<i>E. ligustrinum</i>	Bra., Col*, Gui. Fr., Ven.
Archerythroxylum	<i>E. oxycarpum</i>	Pan., Gre., Col., Vem.
Archerythroxylum	<i>E. ruizii</i>	Ecu.
Leptogramme	<i>E. ulei</i>	Bol., Bra., Col., Ecu., Per., Ven*.
Microphyllum	<i>E. panamense</i>	Pan., Col., Ecu*, Ven.
Pogonophorum	<i>E. barbatum</i>	Bra.
Rhabdophyllum	<i>E. campestre</i>	Bol., Bra., Par.
Rhabdophyllum	<i>E. citrifolium</i>	Cos. Ric., Pan., Bol., Bra., Bol., Col., Ecu. Gui. Fr., Per., Sur., Ven.
Rhabdophyllum	<i>E. daphnites</i>	Bol., Bra., Per.
Rhabdophyllum	<i>E. fimbriatum</i>	Cos. Ric., Bra., Col., Ecu., Gui. Fr., Per., Ven.
Rhabdophyllum	<i>E. laetevirens</i>	Bra.
Rhabdophyllum	<i>E. squamatum</i>	Ant. Me., Bol., Bra., Col., Ecu., Gui., Gui. Fr., Per., Ven.

\*Registro posterior a Plowman & Hendsold (2004)

### 2.1.2. Material estudiado

Se examinaron cerca de 100 especímenes de las especies de *Erythroxylum* incluidas en este análisis, depositados en las siguientes colecciones: Herbario Nacional Colombiano (COL), New York Botanical Garden (NY), Missouri Botanical Garden (MO), Smithsonian Museum of Natural History (US), Field Museum de Chicago (F), Universidad de Antioquia (HUA), Universidad del Valle (CUVC), instituto de Investigaciones Amazónicas SINCHI (COAH), Universidad del Quindío (HUQ), Universidad Tecnológica del Chocó (CHOCO), Universidad Industrial de Santander (UIS), Universidad del Cauca (CAUP), Universidad Nacional, sede Medellín (MEDEL) y Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe (JAUM). Los números y las localidades de colección de los especímenes estudiados son listados en el Anexo 1.

### 2.1.3. Caracteres y codificación

El análisis fue realizado con el programa NONA (Goloboff, 1997) en el entorno de WinClada (Nixon, 2002). El resultado final presentado fue obtenido bajo los siguientes parámetros de búsqueda de árboles: búsqueda heurística, no constreñida, manteniendo todos los árboles que la memoria permite, búsqueda replicada 1.000 veces (mult\*1000), manteniendo los 10 árboles de arranque en cada replicación (hold/10) y usando el algoritmo "multiple tree bisection-reconnection" (mult\*max). A todos los caracteres se les asignó igual peso. Los valores de soporte de Jackknife para los nodos fue calculado con 1000 réplicas, 30 repeticiones de búsqueda (mult\*30), y tres árboles de arranque por replica (hold/3) sin TBR y con un número máximo de árboles a mantener de 10000.

### 2.1.4. Análisis cladístico

La selección de los caracteres se basó en el estudio de rasgos anatómicos, macro- y micromorfológicos en especímenes de herbario. Los caracteres micromorfológicos se observaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), en un microscopio marca FEI, modelo Quanta 200 (parte de las muestras se recubrieron con oro-paladio), del laboratorio de microscopía electrónica del Centro de Equipos Inter-facultades (CEIF) de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Para el caso de los caracteres anatómicos se realizaron cortes transversales a mano alzada de la zona media de la lámina foliar, estos se clarearon con blanqueador comercial (Clorox®), se tiñeron mediante la coloración carmín-tionina (Becerra, Barrera, & Marquinez, 2002), se observaron con un microscopio Leica DM500, con aumentos entre 4X y 40X, se tomaron fotografías en una cámara Kodak M530 y se montaron en láminas portaobjeto con gelatina glicerina.

## 2.2. Resultados

### 2.2.1. Análisis cladístico

El estudio de diferentes rasgos en las especies estudiadas permitió reconocer 17 posibles caracteres filogenéticos (Tabla 8), los cuales se describen e ilustran a continuación.

Tabla 8. Matriz de datos de 17 caracteres morfológicos para las especies del complejo *E. macrophyllum* y el grupo externo. Estados no conocidos marcados con “?”.

	Numero de los caracteres																
Taxones	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>E. sp. nov. 1</i>	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	3	1	0	?	2	2	1
<i>E. aff. macrocalyx</i>	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
<i>E. sp. nov. 2</i>	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	3	1	1	0	2	1	1
<i>E. barbatum</i>	0	1	1	1	1	0	0	2	?	1	1	1	0	0	3	1	0
<i>E. campestre</i>	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	3	1	0	0	2	2	1
<i>E. carthagenese</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0
<i>E. citrifolium</i>	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	3	1	0	0	2	2	1
<i>E. cuneifolium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. daphnites</i>	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	3	1	0	2	2	1	1
<i>E. fimbriatum</i>	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	3	1	1	1	1	1	0
<i>E. kapplerianum</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	?	1	3	1	0	0	2	2	0
<i>E. laetevirens</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. ligustrinum</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	3	1	1	1	1	1	0
<i>E. Macrocalyx</i>	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
<i>E. macrophyllum</i>	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	3	1	0	0	2	1	1
<i>E. oxycarpum</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	3	1	0	1	1	0	0
<i>E. panamensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0
<i>E. pauciflorum</i>	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	3	1	0	0	2	1	1
<i>E. ruizii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. savannarum</i>	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	3	1	0	2	2	1	1
<i>E. squamatum</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	2	1	0	?	1	1	1
<i>E. suberosum</i>	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	3	1	0	0	2	1	1
<i>E. ulei</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	3	1	1	1	1	1	0

### Descripción de los caracteres

0) Marcas de vernación en el envés foliar: (0) ausente, (1) presente.

Uno de los rasgos que suele asociarse con el género *Erythroxylum* es la presencia de dos líneas en el envés foliar, a manera de venación acródroma, no obstante esta característica solo está presente en algunas especies neotropicales del género, entre estas las especies cultivadas; *Erythroxylum coca* y *Erythroxylum novogranatense*. En algunas especies las líneas

no se observan claramente (el procesamiento de las muestras las difumina), sin embargo, normalmente puede notarse una zona más clara cerca a la vena media, a la que usualmente se le denomina “panel central”, o “areola central”, la cual tiene el mismo origen de las líneas de vernación (Figura 2-1).

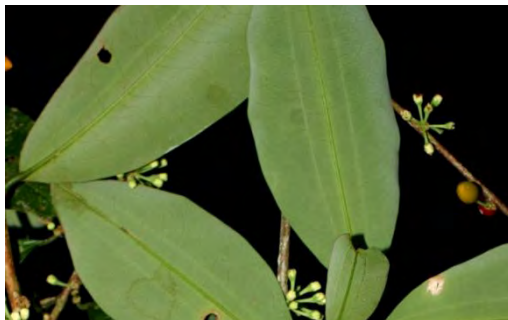


Figura 2-1. Envés foliar de *Erythroxylum gracilipes* mostrando las líneas de vernación.

1) Persistencia de las estípulas: (0) persistentes, (1) caedizas.

En cuanto a la permanencia de las estípulas en las ramas, se presentan dos condiciones marcadas, de un lado están las especies donde estas permanecen aún cuando las hojas han caído, hasta que el desgaste de la edad normalmente las deteriora, y de otro lado, las que caen antes de que la hoja que la acompaña haya caído, o en algunos casos permanecen por poco tiempo, por lo que no se encuentran restos de sus láminas en ramas viejas.

2) Estriaciones en las estípulas: (0) ausentes, (1) presentes.

Desde la monografía de Schulz (1907) las estriaciones en las estípulas han sido un carácter frecuentemente usado en trabajos taxonómicos de *Erythroxylum*. Las estrías son patentes en especies como *E. citrifolium* y *E. macrophyllum*, aunque en especies como *E. Macrocalyx* y *E. squamatum*, estas son difícilmente observables. Se exploró la naturaleza de las estrías realizando cortes anatómico longitudinales a las estípulas de *E. macrophyllum* y *E. citrifolium*, se observó que estas consisten en su totalidad de fibras, sin tejidos vasculares (Figura 2-2).



Figura 2-2. Corte transversal de estípulas de *Erythroxylum macrophyllum* mostrando las fibras les dan la textura estriada

- 3) Forma de las setas laterales de las estípulas: (0) caedizas o ausentes, (1) firmes y divergentes.

En algunas especies las setas de las estípulas son particularmente persistentes, rígidas y divergentes, dando la apariencia de antenas de insectos o cuernos, mientras que en otras especies estas son tempranamente caedizas.

- 4) Número de setas de las estípulas: (0) dos, (1) tres.

Las setas de las estípulas constituyen la prolongación del par de costillas, que van desde la inserción de las estípulas en el tallo hasta el ápice de las mismas. En algunas especies además de las dos setas laterales, se presenta entre estas una seta más, la cual es siempre más corta y caediza.

- 5) Disposición de los catafilos: (0) polísticos y no imbricados, (1) dísticos e imbricados.

Los catafilos son estípulas en las que las hojas no se han desarrollado y constituyen en algunas especies agrupaciones vistosas y características, en algunas especies estos se disponen particularmente ordenados en series dísticas e imbricadas, subtendiendo las flores.

- 6) Estriaciones en las bractéolas: (0) ausentes, (1) presentes.

Las bractéolas son estructuras laminares, por lo general triangulares o deltoides que se localizan en la base de las flores, estas acompañan usualmente en numero de 1 a 4 a cada flor, y pueden presentar estrías longitudinales, similares a las de las estípulas.

- 7) Forma de los lobos del cáliz: (0) triangular, (1) ampliamente ovada, (2) oblonga.

La forma de los lobos del cáliz fue el carácter usado por Schulz (1907) para separar la sección *Macrocalyx* de las otras secciones con estípulas estriadas, en *E. macrophyllum* puede encontrarse una gama de formas que sin embargo corresponden en mayor o menor grado al tipo 1.

- 8) Forma del estigma: (0) clavado, (1) capitado.

Existen fundamentalmente estas dos condiciones en las formas de los estigmas (Figura 2-3). En *E. suberosum* se presentan pelos, sin embargo por estar presentes solo en esta especie no fue codificado.

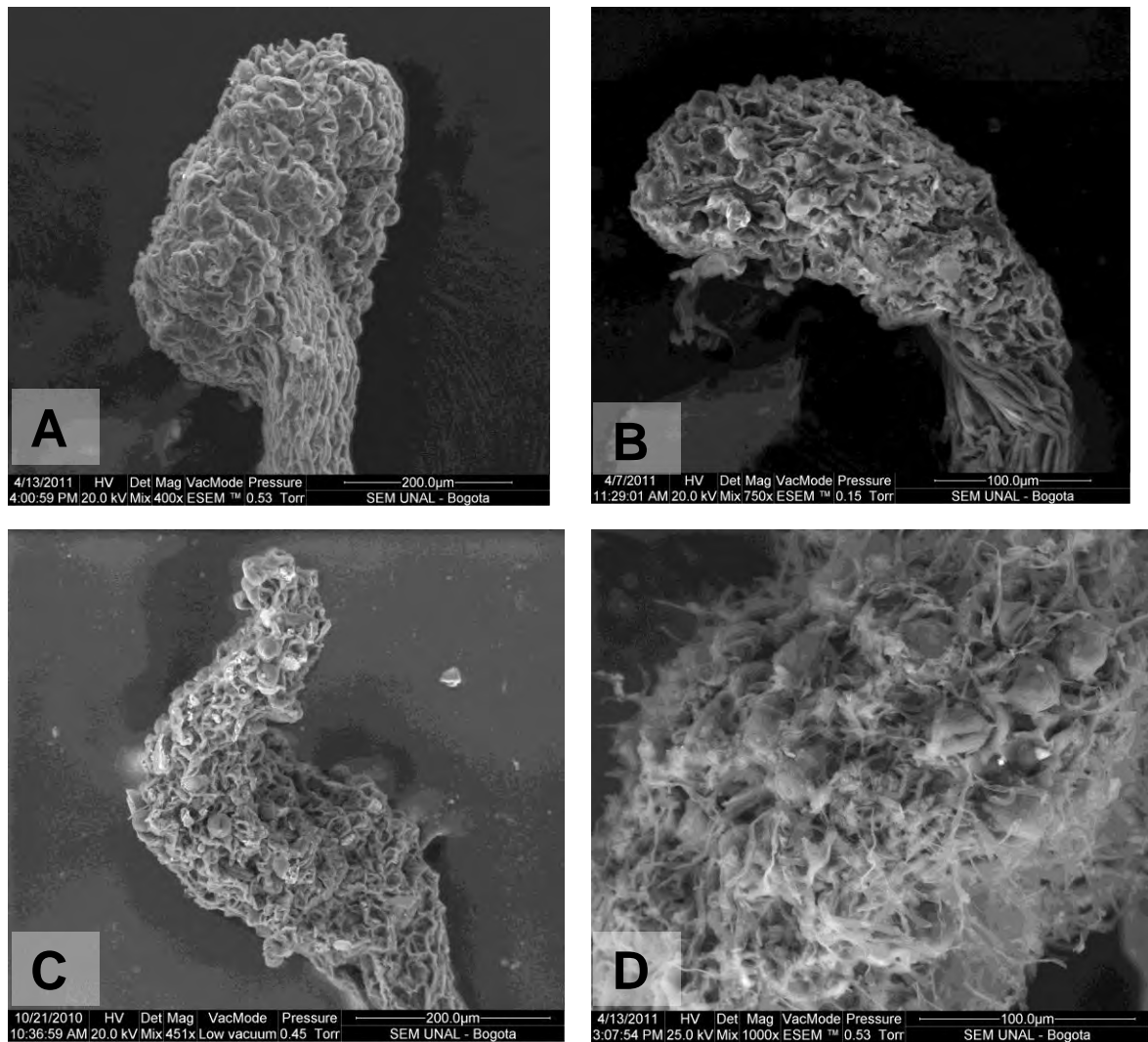


Figura 2-3. Estigmas en las especies estudiadas de *Erythroxylum* vistas en SEM. A) estigma capitado en *Erythroxylum macrophyllum*. B) estigma clavado en *Erythroxylum ulei*, C) *Erythroxylum carthagese*, D) pubescencia en *Erythroxylum suberosum*.

- 9) Cantidad de endospermo en las semillas: (0) escaso (<20 % del volumen de la semilla), (1) abundante (>70% del volumen de la semilla).

Las semillas de *Erythroxylum* presentan marcadas diferencias entre algunas especies, en algunos casos el endospermo ocupa cerca del 70% de la semilla, mientras que en otros casos este alcanza a ocupar solo cerca del 20%.

- 10) Forma del endocarpio en sección transversal: (0) triqueto, (1) 6-sulcado, (2) 8-sulcado, (3) terete.

El endocarpio en los frutos de *Erythroxylum* es de consistencia dura, su forma en sección transversal puede incluso apreciarse en los especímenes de herbario cuando el fruto se encuentra seco y se ha perdido la turgencia del mesocarpio. Se encuentran formas desde completamente teretes hasta con diferente número surcos longitudinales, siendo un carácter muy estable al interior de cada especie.

11) Lóculos conspicuos en el fruto: (0) cero, (1) dos.

Los frutos en *Erythroxylum* provienen siempre de un ovario con tres lóculos, pero solo uno ovulífero (mientras que en *Aneolophus*, el género más basal de la familia, se presentan dos lóculos ovulíferos). El fruto que se produce es de tipo drupa y en numerosas especies del viejo mundo, y en pocas especies de América, estos presentan dos lóculos vacíos evidentes en sección transversal.

12) Papilas en el envés de las hojas: (0) ausentes, (1) presentes.

En algunas especies las superficie abaxial de la lámina foliar es papilosa, las papilas se observaron tanto en cortes anatómicos como en SEM (Figura 2-4).

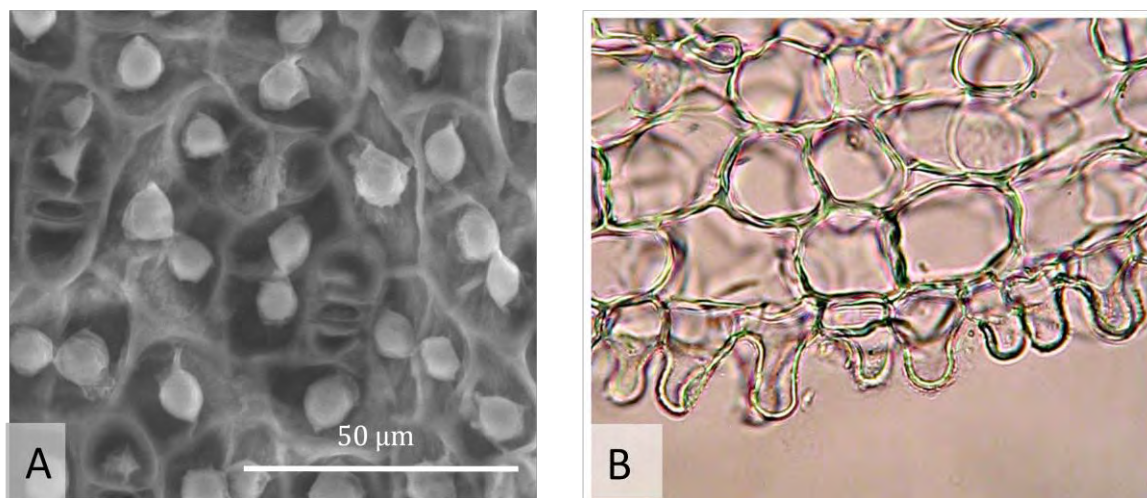


Figura 2-4. (A) Papilas en *Erythroxylum panamense* vistas en SEM. (B) Papilas en *Erythroxylum fimbriatum* vistas en microscopio óptico (40X).

13) Tipo de acumulaciones de cera en el envés foliar: (0) rosetas, (1) tubulos, (2) plaquetas membranáceas, (3) gránulos tipo 1, (3) gránulos tipo 2

De los diferentes patrones de cera epicuticulares, descritos por Barthlott et al. (1998), se pudieron reconocer cinco tipos presentes en más de una especie: plaquetas membranáceas, son plaquetas que emergen de la superficie en ángulo recto y sin ninguna orientación (Figura 2-5A y 15I), rosetas, consistentes en ensamblajes de múltiples plaquetas más o menos radialmente ensambladas (Figura 2-5B), capas fisuradas, usualmente capas gruesas fracturadas naturalmente y mostrando un relieve de terrazas (Figura 2-5C y 15F), gránulos, cristaloides irregulares, principalmente isodiamétricos y frecuentemente redondeados



(Figura 2-5D y 15G), tubulos, cristaloides cilíndricos y huecos, con una apertura terminal (Figura 2-5E), capa lisa, cobertura continua, detectada por rupturas artificiales (Figura 2-5H).

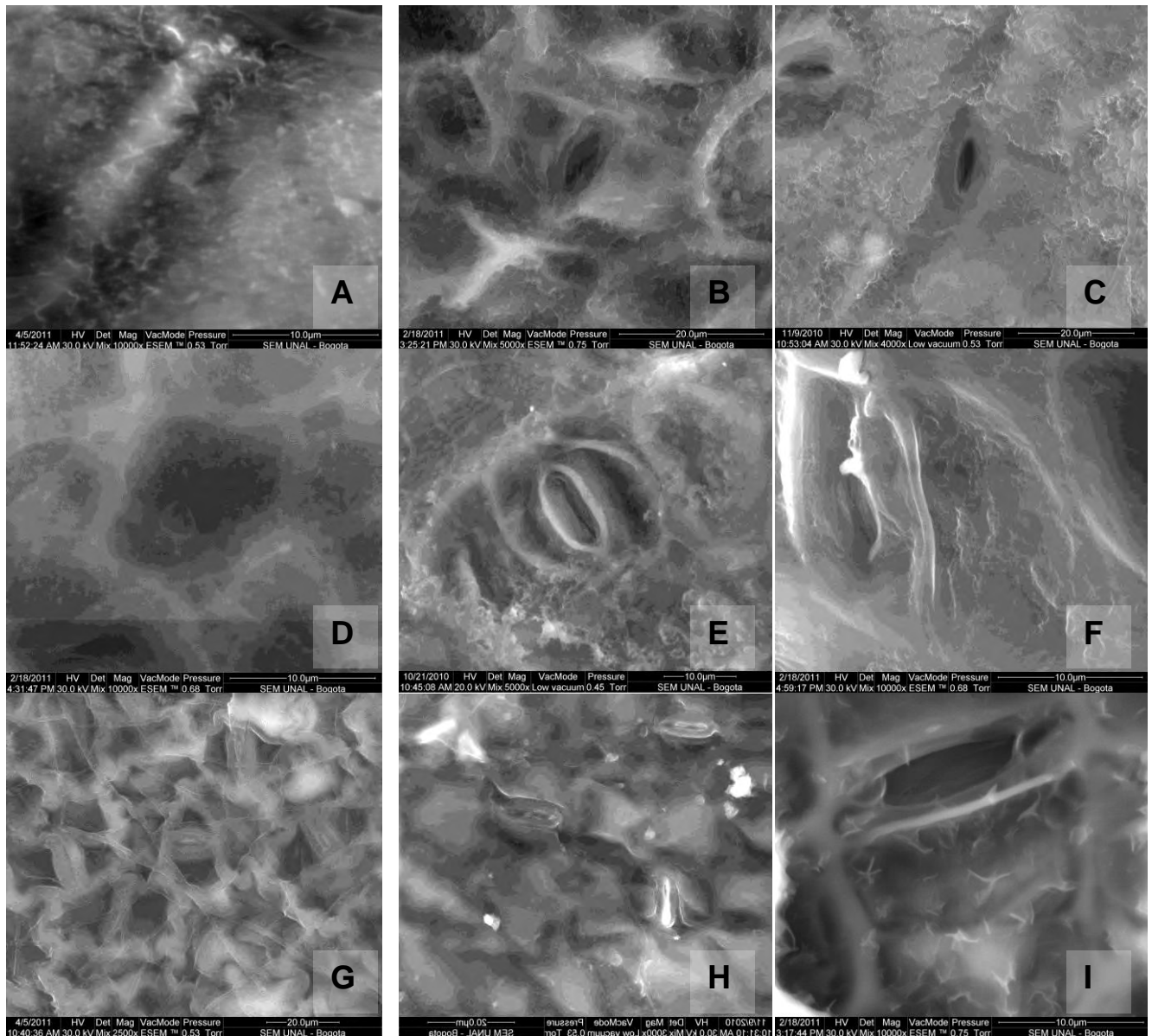


Figura 2-5. Tipos de acumulaciones de cera observadas en el envés foliar vistos en SEM. A) plaquetas membranáceas en *Erythroxylum campestre*. B) plaquetas membranáceas en *Erythroxylum suberosum*. C) capas fisuradas en *Erythroxylum cuneifolium*. D) gránulos en *Erythroxylum daphnites*. E) gránulos en *Erythroxylum macrophyllum*. F) capas fisuradas en *Erythroxylum laetevirens*. G) tubulos en *Erythroxylum kapplerianum*. H) capa lisa en *Erythroxylum ruizii*. I) rosetas en *Erythroxylum carthagenense*.

- 14) Disposición de las fibras perifloemáticas en la vena media: (0) dos capas separadas, adaxial plana, (1) arco casi cerrado a cerrado (2) vaina envolvente espesa adaxialmente (3) fibras ausentes.

Los haces vasculares en la región de la vena media se presentan completamente envueltos en una vaina de tejido esclerenquimático como en *E. macrophyllum* o con una capa abaxial y otra

adaxial de esclerénquima como en *Erythroxylum ruizii* (Figura 2-6). En *Erythroxylum barbatum* no se presenta vaina de esclerénquima.

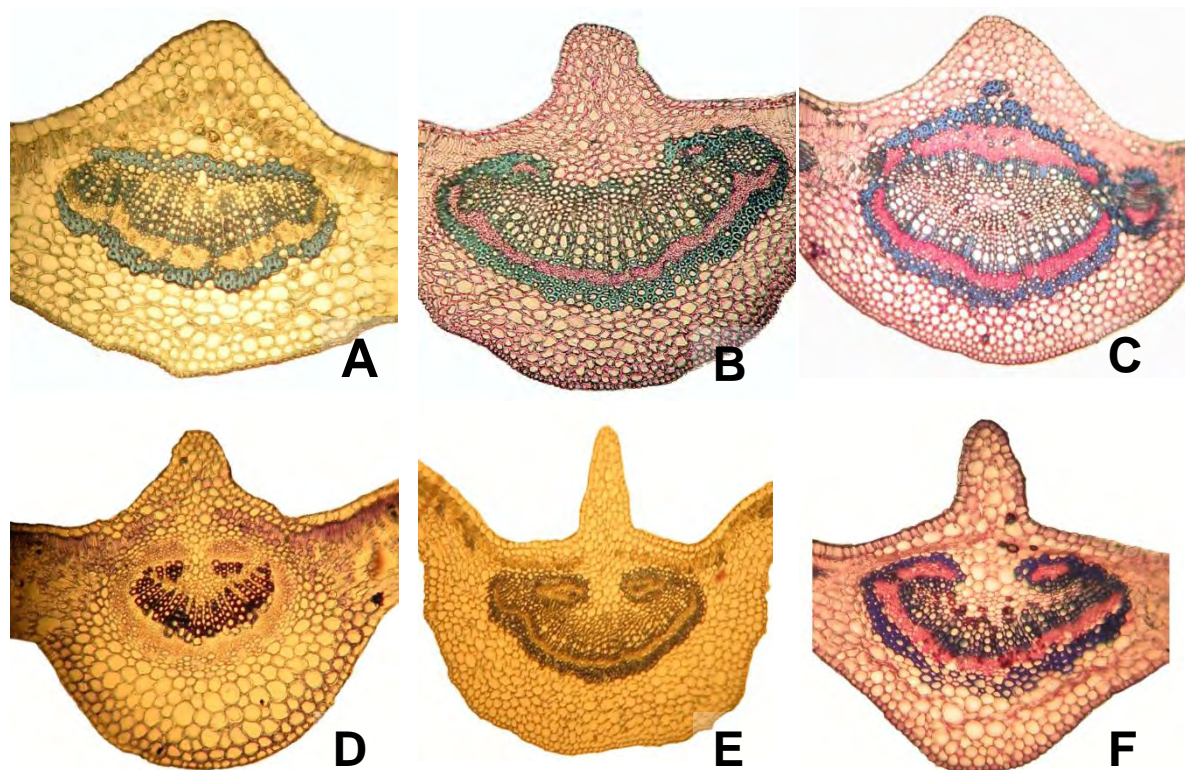


Figura 2-6. Sección transversal de la vena media (A) *Erythroxylum ruizii* mostrando tejido vascular en dos capas separadas, adaxial plana y sin ejes colaterales. (B) *Erythroxylum squamatum* mostrando tejido vascular en forma de arco abierto con dos ejes colaterales. (C) *Erythroxylum citrifolium* mostrando tejido vascular en arco cerrado sin ejes colaterales. (D) *Erythroxylum barbatum* mostrando la ausencia de fibras perivasculares. (E) *Erythroxylum fimbriatum* mostrando ejes colaterales y vena media adaxialmente apiculada (F) *Erythroxylum Macrocalyx* mostrando ejes colaterales.

15) Ejes vasculares adicionales en la vena media: (0) ausentes, (1) dos ejes colaterales, (2) uno adaxial grande

Dos ejes vasculares de diámetro mucho menor al haz vascular central se presentan en algunas especies, estos se localizan colateralmente hacia la cara adaxial de la lámina (Figura 2-6E, 2-6F y 2-6 B).

16) Esclereidas en el mesofilo: (0) ausentes, (1) presentes.

En algunas especies se presenta esclereidas que se proyectan desde la epidermis adaxial y usualmente se ramifican, son abundantes en especies como *E. macrophyllum* y escasas en *E. squamatum* (Figura 2-7A y 17B)

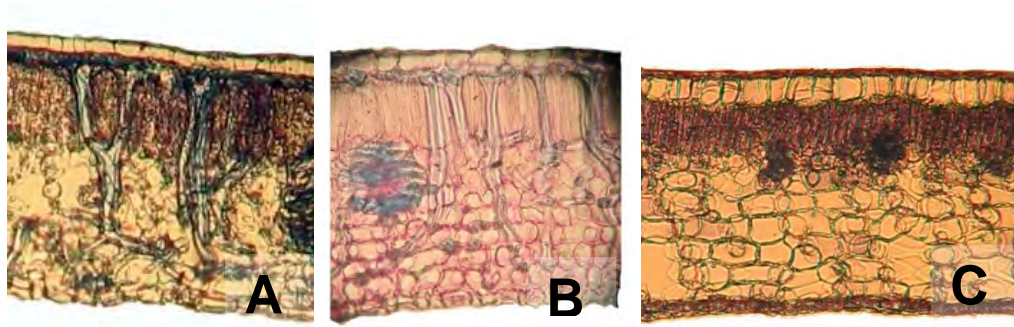


Figura 2-7. Sección transversal del mesófilo de: A) *Erythroxylum savannarum* mostrando esclereidas dispersas en mesófilo laxo, B) *Erythroxylum citrifolium*, mostrando esclereidas en mesófilo compacto. C) *Erythroxylum ruizii*, mostrando mesófilo sin esclereidas.

### Cladogramas encontrados

Se obtuvieron 3 árboles más parsimoniosos, con una longitud de 36 pasos, índice de consistencia (IC) de 63 e índice de retención (IR) de 85, en el consenso estricto colapsan cuatro nodos (Figura 2-8).

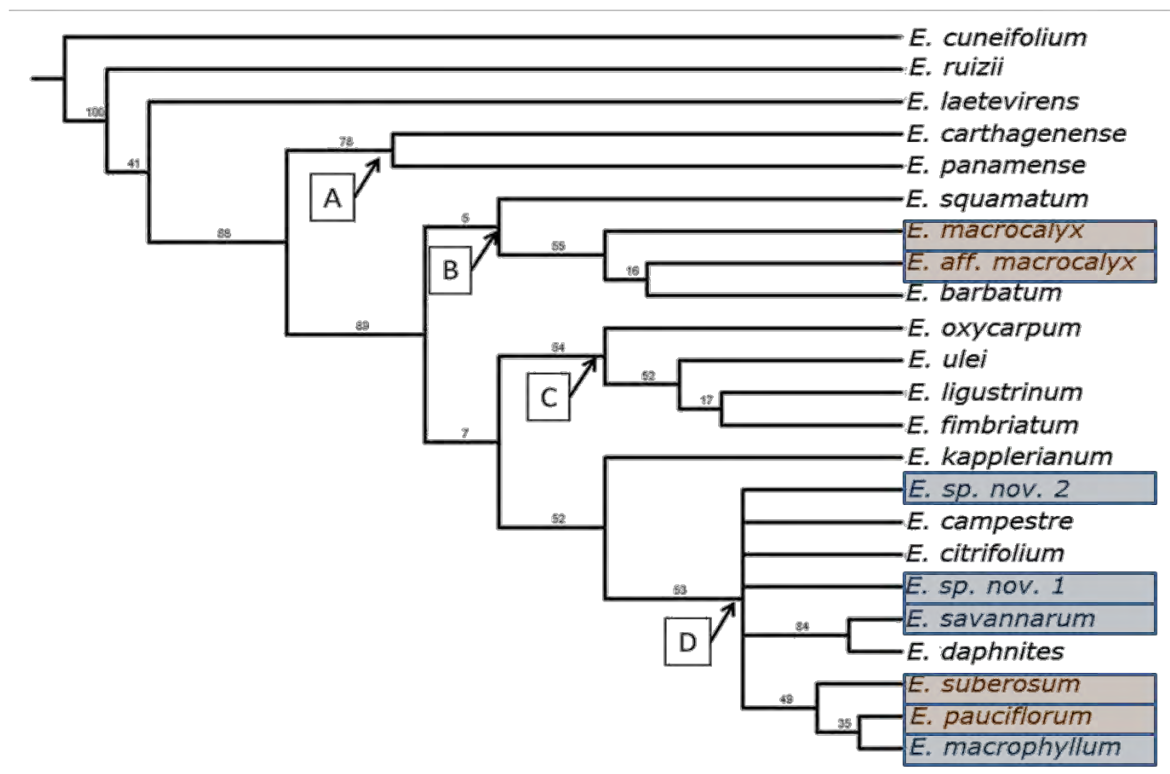


Figura 2-8. Consenso estricto del análisis cladístico para el complejo *Erythroxylum macrophyllum* mostrando soporte de Jackknife para cada rama e indicando los principales clados (A-D), en azul las especies del complejo *E. macrophyllum*, y en rosado las demás especies de la sección *macrocalyx*.

Los clados A + B + C + D + *E. kapplerianum* (Figura 2-9) tienen soporte Jackknife de 88% se soportan por tres sinapomorfias no homoplásicas, la forma del endocarpio 6-sulcada (carácter 10/estado 1), lóculos conspicuos en el fruto ausentes (11/1) y fibras perivasculares en forma de arco casi cerrado a cerrado (14/1). El clado A, conformado solo por dos especies de la sección *Archerythroxylum* con Jackknife de 78% se soporta por una sinapomorfia no homoplásica, las líneas de vernación en el envés foliar (0/1), y por una homoplasia, la presencia de papilas en el envés foliar, carácter también presente en el clado C con excepción de *E. oxycarpum* y en *E. sp.nov.2*.

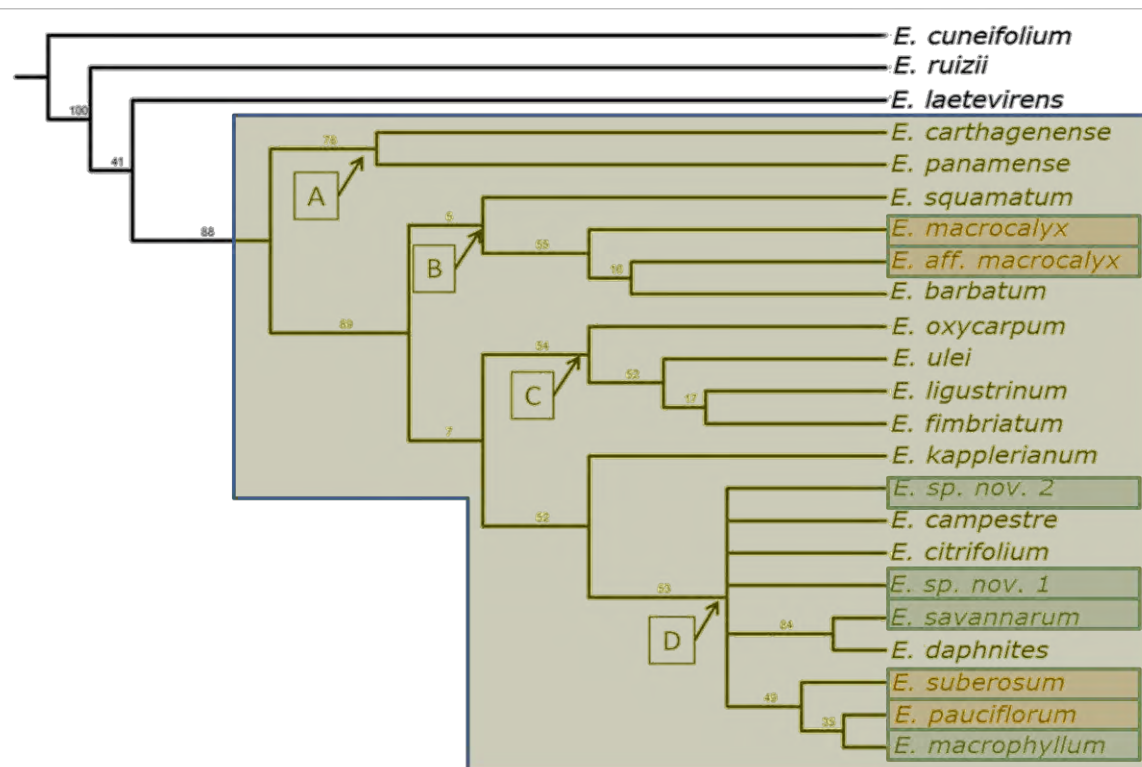


Figura 2-9. Clados A + B + C + D + *E. kapplerianum* resaltados en amarillo.

Los clados, B+C+D+ *E. kapplerianum* (Figura 2-10) tienen un soporte Jackknife de 89%, con tres sinapomorfias no homoplásicas; presencia de tres setas terminales en las estípulas (4/1); semillas con abundante endospermo y presencia de ejes colaterales en la vena media. El clado B tiene un muy bajo soporte (7%) por el alto nivel de homoplasia, se soporta solo por las estípulas estriadas, carácter homoplásico presente también en el clado D y en *E. laetevirens*.



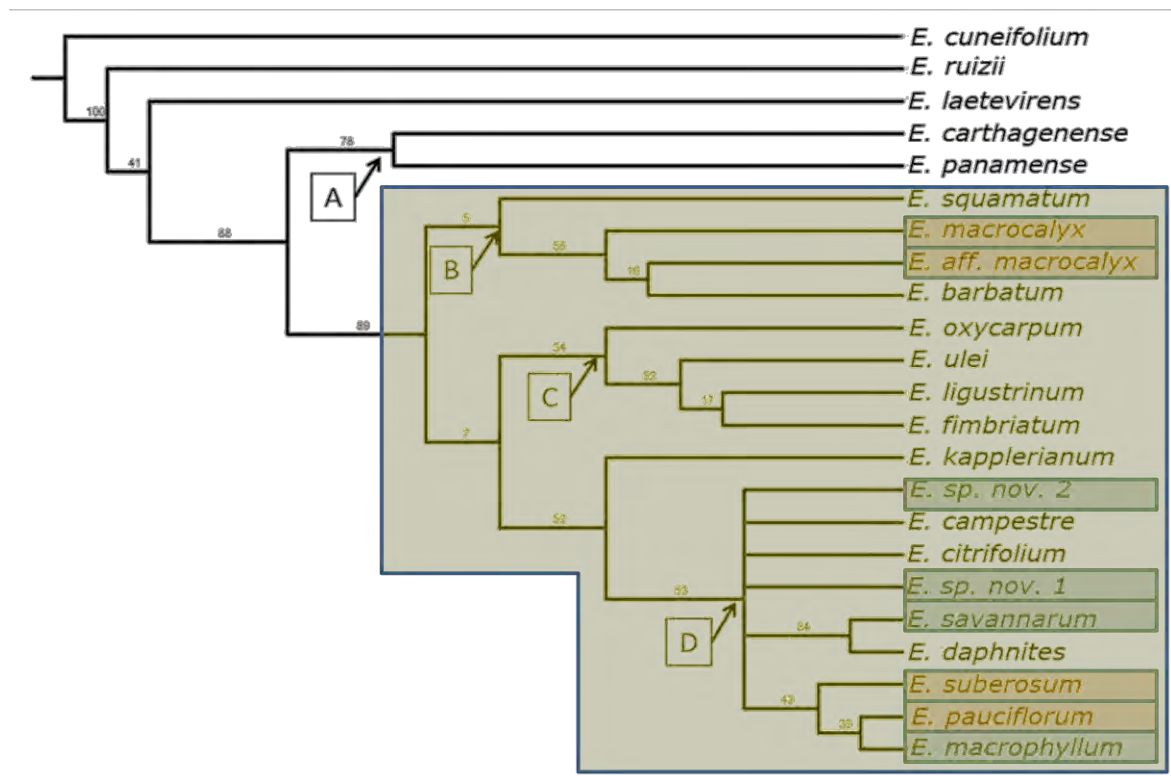


Figura 2-10. Clados B+C+D+ *E. kapplerianum* resaltados en amarillo.

Los clados C+D+ *E. kapplerianum* (Figura 2-11) presentan un soporte Jackknife de solo 7% con una sinapomorfia no homoplásica, la forma terete del endocarpio, sin embargo tanto "C" como D + *E. kapplerianum* presentan soportes mayores al 50%, (54 y 52% respectivamente). El clado C se soporta por la presencia de acumulaciones de cera tipo roseta en el envés foliar y por la forma de las setas, aunque este último es homoplásico, compartido por parte del clado B. En clado D + *E. kapplerianum* se soporta por las fibras perifloemáticas completamente envolventes y por las estípulas caedizas, carácter homoplásico presente también en *E. barbatum*. En clado D, donde se ubican la mayoría de especies de *Macrocalyx* y algunas de *Rhabdophyllum* es soportado con Jackknife de 53% por bractéolas estriadas y los caracteres homoplásicos estípulas estriadas y presencia de esclereidas en el mesofilo, este último presente también en *E. squamatum*.

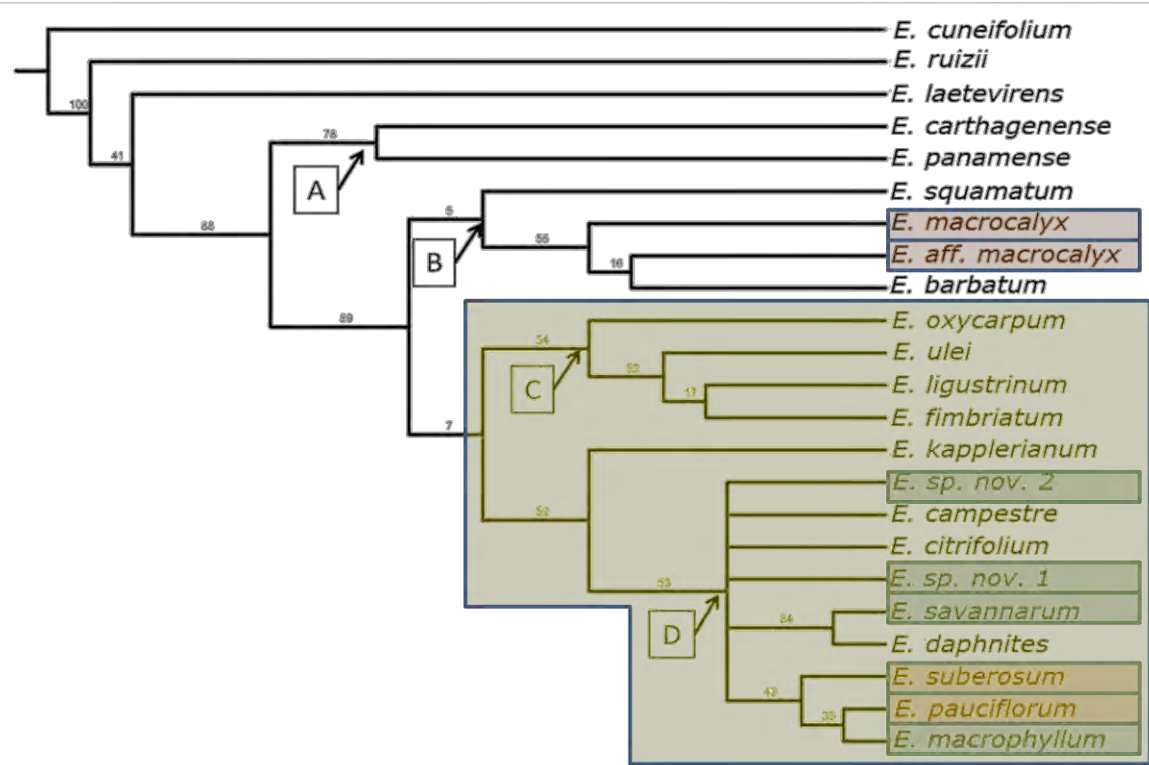


Figura 2-11. Clados C+D+ *E. kapplerianum* resaltados en amarillo.

El clado C presenta un soporte Jackknife de 54 %, y está soportado por una sinapomorfia no omoplásica, la acumulación de ceras epicuticulares de tipo roseta (13/1) y por una sinapomorfia homoplásica (3/1), la forma firme y divergente de las setas estípulares, la cual se comparte con el clado B.

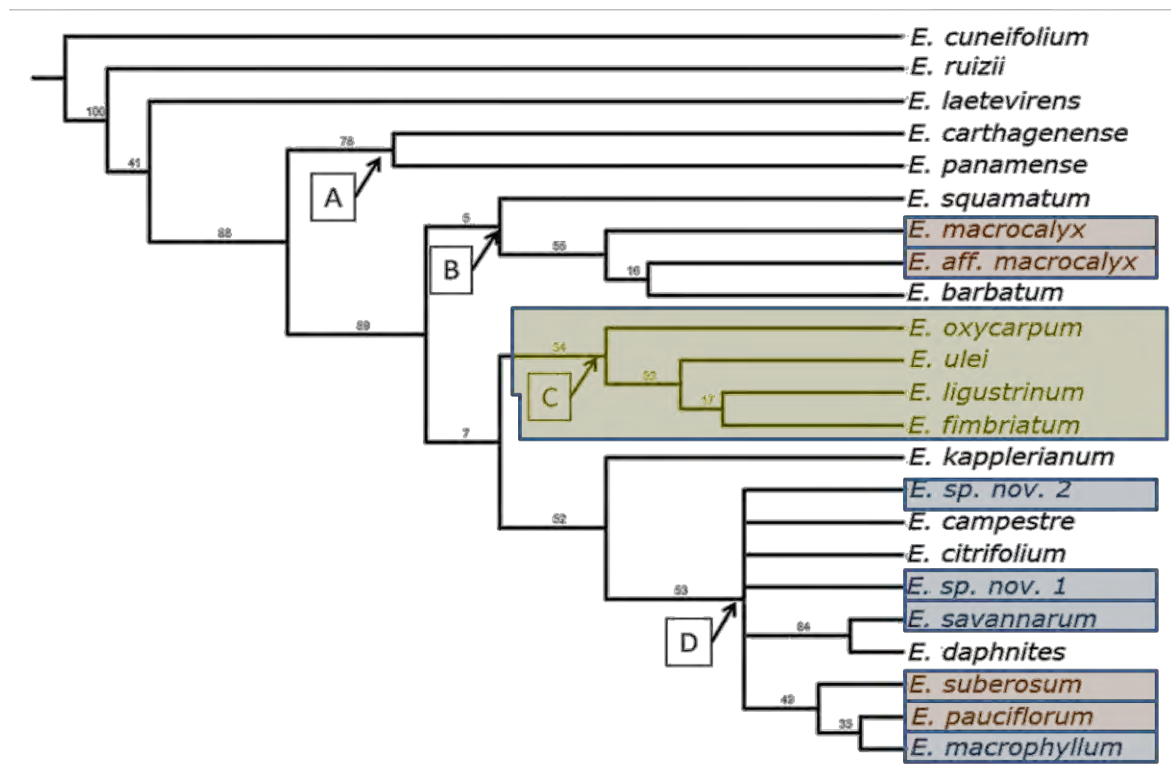


Figura 2-12. Clado C resaltado en amarillo.

El clado D (Figura 2-13) está soportado con soporte Jackknife de 54 %, con una sinapomorfia no homoplásica, fibras perifloemáticas envolventes y por una sinapomorfia homoplásica, estípulas caedizas, la cual se comparte con *E. barbatum*.

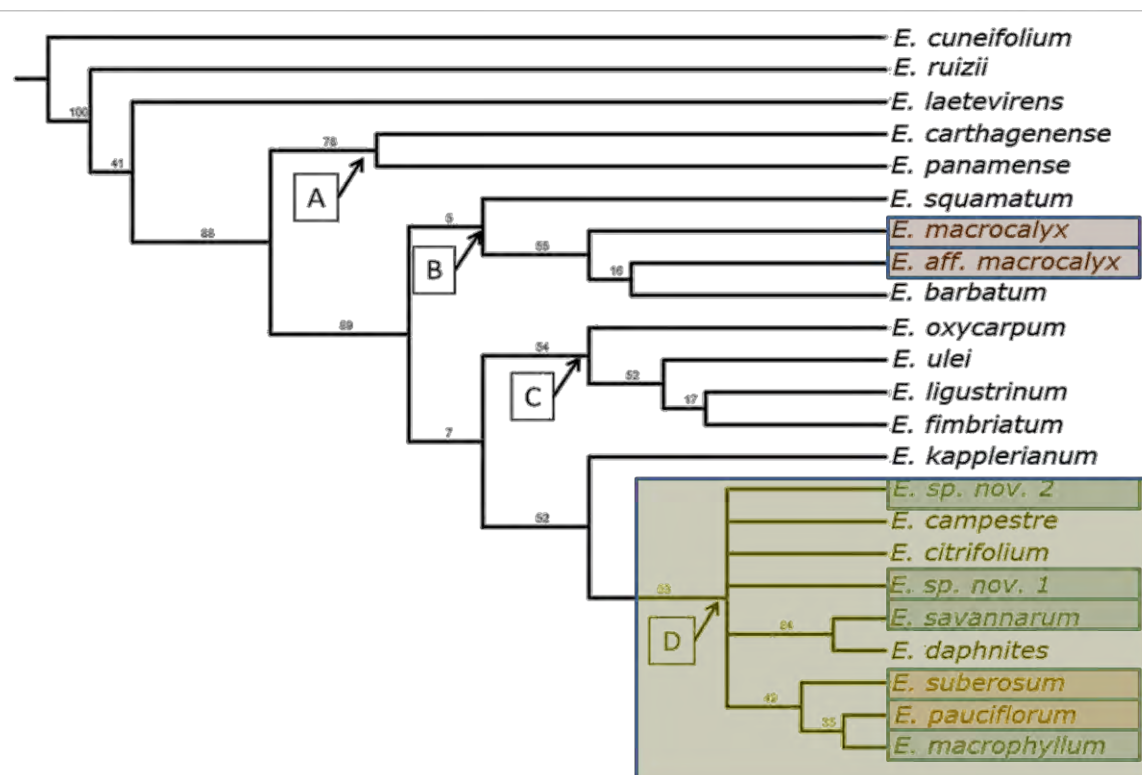


Figura 2-13. Clado D resaltado en amarillo

Los resultados muestran que la sección *Macrocalyx* no es monofilética, algunas especies de la sección como con *E. macrophyllum* y *E. suberosum* se relacionan más cercanamente con especies de las sección *Rhabdophyllum* como *E. daphnites*, *E. campestre* y *E. citrifolium*, en el clado D, con soporte mayor al 50%, en tanto que *E. Macrocalyx*, la especie tipo de la sección, se muestra más cercana a *E. barbatum* de la sección *Pogonophorum*, aunque con escaso soporte, pero incluso más cercana al clado C que al D, donde se ubican las demás especies de la sección (Figura 2-8).

Tampoco el complejo *Erythroxylum macrophyllum* es monofilético, pues *E. savannarum* se relaciona más estrechamente con *E. daphnites* de la sección *Rhabdophyllum* que con cualquier otra especie del complejo y *E. macrophyllum* se relaciona más estrechamente con *E. pauciflorum* y *E. suberosum* que con las otras especies del complejo, aunque el soporte Jackknife de este clado es inferior a 50% (Figura 2-8).

## 2.3. Discusión

La homología de algunos caracteres puede ser reinterpretada, en particular, la presencia de esclereidas en el mesófilo se presenta en todo el clado D y en *E. squamatum*, sin embargo, la observación detallada muestra que la densidad de estas estructuras en esta especie es considerablemente menor que en el clado D, lo que sugiere un posible origen independiente.



El carácter 7, estado 1 (forma de los lobos del cáliz), uno de los caracteres diagnósticos de la sección *Macrocalyx*, no es soportado en el análisis como sinapomorfia de este grupo, así mismo, la presencia de estriaciones en las estípulas, carácter muy empleado en tratamientos taxonómicos desde Schulz (1907) (carácter 2, estado 1) es homoplásico (Figura 2-9), al presentarse tanto en el clado B como en el D, e incluso en *E. laetevirens*, especie muy divergente de estos dos clados (Figura 2-8).

Se encontró evidencia de que las amplias secciones *Archerythroxylum* y *Rhabdophyllum* no son monofiléticas. Los miembros *Archerythroxylum* que se incluyeron en la filogenia se disponen en tres diferentes clados, clados A, C y *E. kapplerianum*, y los de *Rhabdophyllum* en B (*E. squamatum*), C (*E. fimbriatum*), D (*E. citrifolium*, *E. campestre* y *E. daphnites*) y *E. laetevirens* en la base del cladograma.

De acuerdo al análisis cladístico, la sección *Macrocalyx* debe ser redefinida, sin embargo, dado que es justamente *E. Macrocalyx* (la especie tipo) la especie más divergente, no resulta viable reconfigurar la sección excluyendo esta especie.

La suma de evidencia que refuta la clasificación infragenérica de Schulz (1907), hace necesaria la propuesta de una nueva clasificación, sin embargo esta debe esperar a la inclusión de mayor cantidad de especies y el empleo de caracteres moleculares en el análisis.

